REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 1 ABRIL, 1941 NUMERO 1

ENSAIOS DE TRATAMENTO DAS GANGRENAS GAZOSAS EXPERIMENTAIS PELO OXIGÊNIO EM ALTAS PRESSÕES E PELO OXIGÊNIO EM ESTADO NASCENTE [1]

ALVARO OZORIO DE ALMEIDA e GENESIO PACHECO

Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, D. F.

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Sendo os microorganismos produtores da gangrena gazosa em geral estritamente anaeróbios, a idéa de aplicar o oxigênio ao tratamento de infecções produzidas por eles apresentou-se muito naturalmente. Entretanto, a aplicação do oxigênio no local da infecção ou por inhalação, apresenta dificuldades e sobretudo inconvenientes pela possibilidade da formação de embolias gazosas mortais (SEIFERT). Por outro lado ha dificuldades em fazer chegar quantidade suficiente de oxigênio a todos os pontos dos tecidos onde se localizam os germens causadores da infecção para exercer a ação bactericída.

Na verdade, durante o percurso do sangue até atingir os tecidos infectados o oxigênio vai sendo consumido pelas células vivas situadas em seu caminho; em consequência disto sua tensão vai caindo progressivamente e quando atinge os germens da gangrena nos tecidos infectados desceu a tão baixos valores que se tornou insuficiente para matar ou mesmo paralizar a proliferação dos microorganismos anaeróbios.

Colocando-se, entretanto, o animal infectado numa câmara com oxigênio submetido a altas pressões, pode-se conseguir no sangue uma tensão de O^2 suficientemente elevada para chegar aos tecidos infectados em quantidade bastante para exercer ação letal sobre os microorganismos anaeróbios.

A possibilidade de curar gangrenas gazosas pelo oxigênio se resumiria, pois, em conseguir tensões de oxigênio no sangue suficiente para uma ação bactericida dos anaeróbios e que fosse ao mesmo tempo suportada pelo organismo.

E' possivel submeter o homem e os animais a 4 e 5 atmosferas de O^2, em câmaras fechadas, sem alteração ou perigo de vida, graças ao

1 Recebido para publicação a 31 de Janeiro de 1941.
Trabalho da Seção de Estudos das Infecções Anaeróbias, anexa à Seção de Cancerologia da Fundação Gaffrée & Guinle.

recurso de submetê-los a bruscas descompressões, no caso de sobrevirem convulsões consequentes às compressões, como mostrou um de nós (A. Ozorio de Almeida).

Nesta base retomamos o problema do tratamento das gangrenas pela oxigênoterapia sob altas pressões.

EXPERIÊNCIAS COM OXIGÊNIO EM ALTA PRESSÃO

Começamos nossas experiências com cobaias. A infecção anaeróbia se desenvolve facilmente nesses animais; dosando-se suficientemente os germens inoculados, pode-se obter infecções evoluindo no prazo de 24-48 horas, tempo bastante para permitir a atuação do oxigênio sob pressão.

Técnica

Os animais escolhidos eram de peso de 400-500 grs. Inoculação feita debaixo da pele de uma das coxas. Após 1 a 3 horas, eram os animais inoculados submetidos a pressões de 2 a 6 atmosferas de O^2, de uma só vez ou repetidas vezes, conforme a experiência. Faziam-se as compressões numa câmara pequena de 5.000 cc., dotada de 2 aberturas para entrada e saída do gaz, o que permitia eliminar o ar existente e renovar a atmosfera de O^2 da respiração cada 15 minutos, enquanto durava a compressão. Em cada experiência infectavam-se dois ou mais animais destinados a compressão, e sempre dois eram reservados para testemunhas, deixados sem comprimir, recebendo todos, comprimidos e testemunhas, a mesma dose de germens.

Inoculações feitas com bactérias anaeróbias obtidas de culturas em meio de Tarozzi: caldo peptonado comum, glicosado a 1 %, com fragmentos de fígado até 1/3 de volume de caldo, pH 7.4., recoberto com camada de 1 cm. de vaselina sólida. Os tubos de cultura eram aquecidos e resfriados rapidamente, antes das semeaduras. Empregaram-se culturas incubadas por 24 horas a 37°, fazendo-se inoculações prévias de 0,1 a 2 cc., completados os volumes a 2 cc. com caldo simples, injetados por via subcutânea, para determinação da *d. i. m.* (*dose infectante mortal*).

1.ª SÉRIE — EXPERIÊNCIAS COM *Clostridium septicum* (VIBRIÃO SÉPTICO)

Cultura n. Cl. 50, de nossa coleção, amostra recebida do Instituto Pasteur de Paris. *D. i. m.* para cobaia 0,5 cc.

Exp. 1 — Em 26/4/38 — Experiência de compressão de 2 atmosferas de O^2, 2 hs., *post-inoculum*, durante 1 h., repetida 1 vez, após 1/2 h. de repouso. Quatro cobaias: 2 comprimidas morreram no mesmo prazo que as 2 testemunhas.

Exp. 2 — Em 28/4/38 — Compressões de 3 atmosferas em 2 de 4 cobaias infectadas. Prolongou-se o tempo de compressão para 2 horas, com repouso de 1 h. e 25 m.; aumentando ainda a pressão de O^2 para 6 atmosferas na 2.ª com-

pressão, durante 8 m. Morrem as 2 comprimidas no mesmo prazo que as 2 testemunhas.

Exp. 7 — Em 6/5/38 — Pressão de 3 atmosferas por 2 horas, repouso de 1 h., depois pressão de 6 atmosferas por 8 m. As duas cobaias comprimidas morrem no mesmo prazo que as 2 testemunhas.

Exp. 8 — Em 6/5/38 — Compressão de 5 atmosferas por 10 minutos, repetidas 3 vezes, com intervalo de 15 m. uma da outra. Após 3 1/2 h. da ultima compressão, mais 2 compressões de 5 atmosferas cada uma, durante 10 m. As compressões não favoreceram as 3 cobaias comprimidas em relação às 2 testemunhas.

QUADRO I

Cobaias infectadas com "Clostridium septicum"

Experiência n.º	*Atmosferas de 0ª*	*Duração das compressões*	*Intervalo entre as compressões*	*Comprimidas / Morte*	*Testemunhas inoculadas / Morte*
1	1.ª 2 / 2.ª 2	1 hora / 1/2 hora	1/2 hora	2/2	2/2
2	1.ª 3 / 2.ª 6	2 horas / 8 minutos	1,25 hora	2/2	2/2
7	1.ª 3 / 2.ª 6	2 horas / 8 minutos	1 hora	2/2	2/2
8	1.ª / 2.ª 5 / 3.ª	10 minutos	15 minutos	3/3	2/2

Exp. 9 — Em 7/5/38 — Compressões de 3 atmosferas, durante 2 horas, com intervalo de 1 hora nova compressão de 2 atmosferas, durante 1 hora, intervalo de 3 hs.; dia seguinte 6 atmosferas, durante 8 m. *Houve sobrevida das 2 comprimidas*. As 2 testemunhas morreram regularmente dentro de 48 hs.

Exp. 10 — Em 7/5/38 — Compressão de 5 atmosferas durante 10 minutos com intervalo de 2 hs. Mais duas compressões de 5 atmosferas durante 10 minutos, com intervalo de 15 m. uma da outra. Morre uma das comprimidas, após 24 horas. *A outra sobrevive*. As duas testemunhas morrem regularmente.

Exp. 11 — Em 10/5/38 — Quatro compressões de 3 atmosferas durante 1 h. com 1 h. de intervalo. *Sobrevivem duas das 3 comprimidas*. As 2 testemunhas morrem regularmente.

Exp. 12 — Em 13/5/38 — Compressões: 3 atmosferas durante 1 h., repetida após 1 h. e repetida ainda no dia seguinte, sempre com o mesmo espaço de tempo. *Sobrevivem as 2 cobaias comprimidas*. As 2 testemunhas morrem regularmente.

Exp. 13 — Em 13/5/38 — Compressão de 3 atmosferas, repetidas 3 vezes, com intervalo de 1 a 3 horas uma da outra; no dia seguinte pela manhã repetida ainda uma vez, com a mesma duração. *Sobrevive uma das 2 cobaias comprimidas*. Testemunhas morrem regularmente.

QUADRO II

Cobaias infectadas com "Clostridium septicum"

Experiência n.º	*Atmosferas de 0^2*	*Duração das compressões*	*Intervalo entre as compressões*	*Comprimidas / Morte*	*Testemunhas inoculadas / Morte*
9	1.ª 2.ª 3.ª — 3	2 horas	1-3 horas	2/0	2/2
	4.ª 6	8 m.	20 horas		
10	1.ª 2.ª 3.ª — 5	10 minutos	15 minutos	2/1	2/2
11	1.ª 2.ª 3.ª 4.ª — 3	1 hora	1 hora	3/1	2/2
12	1.ª 2.ª 3.ª — 3	1 hora	1 hora	2/0	2/2
	4.ª		20 horas		
13	1.ª 2.ª 3.ª — 3	1 hora	1 a 3 horas	2/1	2/2
	4.ª		20 horas		
15	1.ª 2.ª 3.ª 4.ª — 3	1 hora	2 horas	2/1	
16	1.ª 2.ª — 3	1 hora	20 horas	2/1	2/2
17	1.ª 2.ª 3.ª — 3	1/2 hora	1 hora	2/1	

Exps. 15, 16 e 17 — Em 14/5/39 — Compressões de 3 atmosferas durante 1 h., repetidas 3 vezes, com intervalo de 2 horas, *protegem 1 das 2 cobaias comprimidas* em relação às 2 testemunhas (exp. 15); 1 compressão de 3 atmosferas durante 1 h., repetida pela manhã e à tarde, *protege 1 das 2 cobaias comprimidas* (exp. 16); 3 compressões de 3 atmosferas por 1/2 hora, com 1 h. de intervalo uma da outra, *deixam sobreviver uma das duas cobaias comprimidas* (exp. 17); as 2 testemunhas morrem regularmente.

Resultam das esperiências que O^2 sob pressão não influiu na evolução da gangrena gazosa experimental provocada pelo *Clostridium septicum* com numero reduzido de compressões. Aumentando-se, porém,

o número de compressões, houve franca proteção dos animais infectados. Enquanto no 1.º grupo, relacionado no quadro I, a mortalidade foi de 100 %, como as testemunhas, que receberam dose seguramente mortal, no 2.º grupo, do quadro II, houve proteção de 76 % dos animais infectados e submetidos a pressões repetidas várias vezes.

2.ª SÉRIE — EXPERIÊNCIAS COM *Clostridium Welchii* (BACILO PERFRINGENS)

Amostra Cl. 8 da nossa coleção, recebida de ZEISSLER sob nome de *B. Fraenkel n.º 57. D. i. m.* para cobaia 0,5 cc.

Exp. 22 — Em 20/5/38 — 4 cobaias submetidas a compressões de 3 atmosferas durante 30 m., com intervalo de 1 hora uma da outra, repetidas 3 vezes nêsse dia e uma vez no 2.º e 3.º dias, sempre com o mesmo intervalo. Resultado — morte de uma das cobaias comprimidas no mesmo dia, e da outra no 3.º dia de compressão; as 2 testemunhas morrem no 3.º dia.

Exp. 23 — Em 25/5/38 — Compressão única de 3 atmosferas, durante 1 hora. Resultado — morre uma das 2 cobaias comprimidas no mesmo dia e a outra no dia seguinte, com as 2 testemunhas.

Exp. 24 — Em 27/5/38 — Quatro compressões de 3 atmosferas durante 1 hora, as 2 primeiras com uma hora de intervalo um da outra, a terceira após 2 horas da 2.ª, e a 4.ª passadas 3 horas da 3.ª. No dia seguinte duas novas compressões, como as anteriores, uma pela manhã, outra à tarde. Morre uma das cobaias comprimidas no 2.º e a outra no 3.º dia. As 2 testemunhas morrem no 3.º e 4.º dias.

Exp. 25 — Em 28/5/38 — Compressões de 3 atmosferas durante 1 hora, repetidas 3 vezes com intervalos de 12 horas uma da outra, e ainda repetida 1 vez no dia seguinte, sempre com o mesmo tempo de duração. Morrem as 2 comprimidas no mesmo tempo das 2 testemunhas.

QUADRO III

Cobaias infectadas com "Clostridium Welchii"

Experiência n.º	*Atmosferas de 0ª*	*Duração das compressões*	*Intervalo entre as compressões*	*Comprimidas / Morte*	*Testemunhas inoculadas / Morte*
22	1.ª, 2.ª, 3.ª — 3	1/2 hora	1/2 hora	2/2	2/2
	4.ª, 5.ª — 3	24 horas	24 horas		
23	3	1 hora		2/2	2/2
24	1.ª, 2.ª, 3.ª, 4.ª — 3	1 hora	1.ª — 2.ª: 1 hora; 3.ª: 2 horas; 4.ª: 3 horas	2/2	2/2
25	1.ª, 2.ª, 3.ª — 3	1 hora	1 — 2 horas	2/2	2/2

Depreende-se das experiências não exercer o O^2 sob pressão nenhuma influência protetora sobre a infecção experimental da cobaia com *Clostridium Welchii* (bacilo perfringens). Fortes pressões, ainda que repetidas várias vezes no mesmo dia e nos dias seguintes, não permitiram sobrevida aos infectados. Tampouco retardaram o prazo da morte em relação às testemunhas.

3.ª SÉRIE — EXPERIÊNCIAS COM *Clostridium Novyi* (BACILO OEDEMATIENS)

Amostra Cl. 153 de nossa coleção recebida de ZEISSLER sob n. 60. *D. i. m.* para coelho de 1 a 1,5 quilos — 0,05 cc.

Esta dose determinava na cobaia morte muito rápida, em menos de 24 horas, não permitindo tão curto tempo repetir número de vezes suficiente as compressões de O^2. Não ocasionando infecção doses menores, resolvemos fazer as experiências com este germen em cães e coelhos. Seguimos nêsses animais a mesma técnica das esperiências em cobaias. A dose infectante mortal para coelhos foi proximamente a mesma das cobaias — 0,05 cc. e 0,09 cc. de uma cultura em TAROZZI, de 24 horas. Completando o volume de 1,0 cc. com agua fisiológica, injetado dentro da massa muscular da coxa, produzia-se edema consideravel, dentro de 24 horas *post inoculum*, e morte dentro de 48 horas ou mais tarde, mas matando sempre. Doses mais fortes, de 0,20 cc. ocasionavam morte rápida, em 24 horas ou menos tempo, como nas cobaias.

Nos cães, 0,5 a 1 cc. de cultura produziam extenso edema gazoso na coxa, acompanhado de incapacidade motora da perna infectada, e quasi sempre morte dentro de 2 a 3 dias *post-inoculum*.

Exp. 28 — Em 6/6/38 — Dois coelhos são submetidos a compressões de 3 atmosferas durante 1 h., repetidas 3 vezes no mesmo dia. Morrem no mesmo prazo que as duas testemunhas.

Exp. 30 — Em 13/8/38 — De 6 coelhos infectados 4 são comprimidos a 3,5 atmosferas durante 20 m. a 1 hora, repetida a compressão 3 vezes no mesmo dia, com intervalo de 6 horas da 1.ª e 2 horas da 2.ª compressão. Dois ficam como testemunhas. Morrem os tratados no dia seguinte da morte das testemunhas.

Exp. 33 — Em 25/8/38 — De seis coelhos 4 são comprimidos com 3 atmosferas de O^2 durante 1 1/2 hora, repetida a compressão 4 horas depois. Morrem poucas horas após as 2 testemunhas.

Exp. 41 — Em 6/9/38 — Infectados 4 cães, submetidos 2 cães dos infectados a compressão de 3 atmosferas por 1 hora, repetida uma vez, morrem no mesmo prazo dos 2 outros deixados como testemunhas, infectados mas não submetidos a compressões.

Exp. 44 — Em 5/10/38 — Cães inoculados com amostra recebida de ZEISSLER, com a designação de *B. Novyi n.º 60. D. i. m.* para cão: 0,05-0,1 cc.

Cinco cães inoculados com esta dose; 3 são submetidos a compressões como na experiência 41. Morrem 2 dos tratados em 48 horas, um sobrevive. Os outros dois, deixados como testemunhas, morrem 24 horas depois.

QUADRO IV

Experiências em cães infectados com "Clostridium Novyi"

Experiência n.º	*Atmosferas de O²*	*Duração das compressões*	*Intervalo entre as compressões*	*Comprimidas / Morte*	*Testemunhas inoculadas / Morte*
28	1.ª 2.ª 3.ª — 3	1 hora	1—2 horas	2/2	2/2
30	1.ª 2.ª 3.ª — 3 ½	6 horas	1.ª 1 h. 20 2.ª 20 m. 3.ª 10 m.	4/4	2/2
33	1.ª 2.ª — 3	1 ½ hora	4 horas	4/4	2/2
41	1.ª 2.ª — 3	1 hora	2 horas	2/2	2/2
44	1.ª 2.ª — 3	1 hora	2 horas	3/3	2/2

Resultam das experiências que o oxigênio sob pressão não influi na gangrena gazosa experimental de cães e coelhos produzida pelo *Cl. Novyi* (B. oedematiens).

EXPERIÊNCIAS COM OXIGÊNIO EM ESTADO NASCENTE

Diante dos insucessos da maioria das tentativas de oxigenação geral, a não ser os resultados favoráveis obtidos com vibrião séptico, acima referidos, pensamos decorrerem os insucessos da impossibilidade do oxigênio atingir todos os pontos onde se encontravam os germens injetados para infecção experimental. A hipótese era perfeitamente razoavel à vista de extenso edema gerado em pouco tempo no local da inoculação, em consequência da atuação da toxina formada, e certamente constituindo embaraço mecânico à circulação sanguínea, criando ao mesmo tempo condições favoraveis à proliferação dos anaeróbios com o abaixamento do potencial de óxido-redução nos tecidos edemaciados.

Tentamos ladear a dificuldade procurando promover a produção *in loco* de agua oxigenada por meio de perborato de sódio, que desprende O^2 em estado nascente pela ação catalítica dos tecidos.

Exp. 49 — Em 23/11/38 — Trez coelhos são infectados com 1 cc. de *Clostridium Welchii,* amostra 172, e 2 dêles receberam em seguida, cada hora, por via venosa, 0,05 gr. de perborato de sódio p. a. SCHERING, dissolvido em agua fisiológica, começando a 1.ª dose 2 hs. *post-inoculum,* perfazendo 3 doses neste dia. Renovam-se as infecções do perborato 3 vezes no mesmo dia, de 2 em 2 horas. Um dos coelhos infectados sofre choque ao receber a 1.ª dose e morre durante a noite. Os dois outros sofrem igualmente choque mas se restabelecem apresentando ambos forte edema local, até o 3.º dia de experiência, quando morre. O 3.º coelho, deixado como testemunha, morre no 3.º dia após inoculação.

Exp. 50 — Em 24/11/38 — Repete-se a experiência 49, utilizando outra amostra de *Clostridium Novyi,* de n.º 153, e o mesmo número de animais. Os coelhos perboratados morrem no mesmo tempo que as testemunhas.

Exp. 51 — Em 29/11/38 — Inoculações com *Cl. Welchii* amostra Cl. 8, e com *Cl. Novyi,* amostra Cl. 153. Cinco animais infectados. Os coelhos foram perboratados: 1 com 0,05 grs. por via venosa, 2 recebem o perborato no local da inoculação, 2 ficam como testemunhas. Passadas 3 horas da inoculação notava-se início da formação do edema e injetava-se o perborato nêsse local. Procurava-se circunscrever a lesão com a solução do perborato, injetada ainda na massa do edema. Resultado: o coelho que recebeu perborato na veia morre de choque na 2.ª dose de perborato, os 2 coelhos perboratados no local da inoculação morrem no mesmo prazo das testemunhas, embora apresentassem extensas lesões acompanhadas de necrose cutânea e corrimento de serosidade no ponto da pele necrosado.

Exp. 52 — Em 2/12/38 — Repete-se a experiência 51 em cobaias. Inoculam-se 4 no peritôneo com *Cl. Novyi,* Cl. 153, e 4 com *Cl. Welchii,* Cl. 8, na mesma via. Duas das cobaias de cada germem são perboratadas no peritôneo 2 vezes por dia, com intervalo de 5 horas para cada dose, e duas ficam para contraprova. O perborato é repetido 2 vezes no dia seguinte, no mesmo espaço de tempo, uma dose da outra. Resultado: Das cobaias inoculadas com *Cl. Novyi* morre uma das perboratadas e uma das testemunhas, no 3.º dia. Uma das testemunhas e uma das perboratadas sobrevivem. Das inoculadas com *Cl. Welchii* morrem ambas as perboratadas mais cedo que as 2 testemunhas.

Exp. 53 — Em 6/12/38 — Nesta experiência procuramos aumentar a dose de perborato, mantendo o perborato pela repetição das doses. Previamente verificamos que 0,08 grs. de perborato por quilo, injetados na veia, determinavam a morte de coelhos, e que doses menores eram toleradas. A dose de 0,03 grs. por quilo, por exemplo, podia ser injetada na veia e repetida uma vez no mesmo dia, com espaço de 3 horas, e ainda renovada no dia seguinte, sem alteração aparente na saude do animal.

Um lote de 8 coelhos são inoculados: 4 com *Cl. Novyi* Cl. 152, 4 com *Cl. Welchii* Cl. 8. Dos coelhos inoculados com *Cl. Novyi* 1 recebe 0,03 grs. de perborato, por via venosa, dose repetida passadas 4 horas. Morre neste mesmo dia, à tarde. O outro recebe 0,045 grs. de perborato na veia, dose repetida ainda no dia seguinte, com o mesmo espaço de tempo. Produz-se edema consideravel no local da inoculação, mas morre tardiamente, 8 dias *post-inoculum.* Testemunhas morrem, em 3 dias e outra em 7 dias.

Dos 4 coelhos inoculados com *Cl. Welchii,* um recebe 0,03 grs. de perborato na veia, dose repetida 4 horas após, e ainda duas vezes no dia seguinte; morre à tarde dêsse dia. Outro recebe 0,045 grs. de perborato, dose repetida como no coelho anterior; apresenta edema como êste, mas sobrevive. Testemunhas mortas, uma com 48 horas, outra com 4 dias.

Exp. 54 — Em 9/12/38 — Com esta experiência procuramos repetir mais a meude as doses de perborato, para tentar uma oxigenação permanente.

Quatro coelhos são inoculados com *Cl. Welchii,* Cl. 8. Recebem 3 doses de perborato, repetidas de hora em hora, 3 vezes ao dia, dose de 0,01 gr. por quilo

de peso. Resultado: os 2 coelhos perboratados sobrevivem, as testemunhas morrem, 1 com 6, outra com 12 dias de infecção.

Exp. 55 — Em 13/12/38 — Renova-se a experiência anterior em 2 coelhos, conservada a dose de perborato e repetidas 4 vezes no dia, e ainda no dia seguinte o mesmo número de vezes. Resultado: Morrem os 2 coelhos perboratados, um dentro de 2, outro de 5 dias. As testemunhas sobrevivem, apezar de terem apresentado ambas forte edema, como os perboratados.

Não tendo havido vantagem com a saturação de oxigênio por êste meio, mudamos a via venosa, talvez de difusão por demais rápida, pela via peritonial. Verificamos previamente que a cobaia suportava bem por essa via doses repetidas de perborato, 0,02 a 0,05 grs. por quilo, dias a fio.

Exp. 56 — Em 15/12/38 — 1) Cinco cobaias inoculadas por via intramuscular com *Cl. Welchii,* Cl. 8, tres são perboratadas por via peritonial, 3 vezes por dia, dose 0,05 grs. por quilo, 1.ª dose administrada 40 m. *post-inoculum* repetida de hora em hora, e renovada cada hora, no dia subsequente. Número total de doses: 4 no 1.º dia, 3 no dia seguinte. Resultado: — Das cobaias perboratadas 2 morrem com 48 horas e uma com 2 horas. As duas testemunhas estavam mortas em 72 horas.

2) Duas cobaias recebem inoculação no peritônio, uma servindo de testemunha. Perborato como nas anteriores. A perboratada não morre, a testemunha morre dentro de 24 horas.

3) Quatro cobaias inoculadas com *Cl. Welchii,* Cl. 3, por via muscular, tres são perboratadas por via peritonial, como acima. Das perboratadas morrem duas com 24 horas e 1 com 48 horas. A testemunha morre com 48 horas.

4) Duas cobaias são infectadas por via peritonial, uma perboratada como acima, outra serve de testemunha. Nenhuma morre.

Exp. 58 — Em 22/12/38 — Cobaias inoculadas com *Cl. Novyi,* Cl. 153, perboratadas cada 2 horas, começando a perboratagem logo após a inoculação, repetidas as mesmas doses e com o mesmo intervalo no dia seguinte. Duas não morrem, apezar de extenso edema formado no local da inoculação; uma morre no 3.º dia. Uma das testemunhas morre no 3.º dia; a outra se restabelece.

Resultam das experiências com oxigênio nascente:

1) Oxigênio em estado nascente, produzido com o emprego de perborato de sódio, em doses aparentemente inócuas para cobaias e coelhos, não influi na gangrena experimental destes animais.

2) Oxigênio gerado pelo perborato mostrou-se inativo administrado por via venosa e peritonial, ou pela injeção no local onde foi produzida a infecção gangrenosa experimental.

3) A repetição ameudada das doses não exerceu qualquer influência favoravel sobre a gangrena gazosa experimental.

COMENTÁRIOS

Durante a guerra de 1914 tentou-se o emprego de O^2, seja gaz puro seja agua oxigenada, injetados nos tecidos. Embora os resultados fossem favoraveis em alguns casos, houve acidentes mortais com a produção de embolias gazosas no pulmão em virtude da penetração do gaz na circulação sanguínea. HUGEL refere observações de SEIFERT com estes acidentes e aconselha injeções pequenas de gaz dispostas em vários pontos para obviar esse perigo. Ao mesmo tempo aconselha o uso de agua oxigenada, aplicavel nos casos de infecções superficiais.

A possibilidade de fazer superoxigenação do sangue pela conservação em câmaras fechadas com O^2 sob pressão motivou nossas tentativas de emprego de O^2 por esse método no tratamento da gangrena gazosa experimental.

Não foram nada favoraveis as tentativas com *Clostridium Welchii* e *Cl. Novyi*, mas com *Cl. septicum* os resultados foram mais que animadores. Si fôra o *vibrião séptico* o germem mais frequente na gangrena gazosa teria êsse método de tratamento decidida preferência e seria de todo aconselhavel.

Foram infrutíferas as tentativas de cura das infecções gangrenosas experimentais com perborato de sódio.

CONCLUSÕES

1) Oxigênio sob pressão exerceu ação curativa sobre a gangrena gazosa experimental produzida pelo *Clostridium septicum* (Vibrião séptico), quando utilizado em compressões repetidas várias vezes. Não pareceram influir nêsse resultado favoravel, compressões muito fortes, de 3 ou mais atmosferas, tampouco o prolongamento do tempo de compressão.

2) Oxigênio sob pressão não tem ação protetora sobre gangrena gazosa experimental produzida pelo *Clostridium Welchii* (bacilo perfringens) em cobaia, ou *Clostridium Novyi*. Ainda que repetidas e reforçadas as pressões de O^2, até 3 atmosferas, não houve proteção em relação às testemunhas.

3) Oxigênio em estado nascente, obtido com solução de perborato de sódio, injetado *in loco* e por vias venosa ou peritonial, numa só ou em doses repetidas, não modificaram o curso da infecção experimental da cobaia ou do coelho com *Cl. Welchii* e *Cl. Novyi*.

ABSTRACT

1) Oxygen under pressure exerted a therapeutic influence in the case of experimentally induced gaseous gangrene, produced by *Clostridium septicum*, when applied repeatedly. High compressions, of 3 or more atmospheres do not seem to influence the favorable results, nor does a prolongation of pressure.

2) Oxygen under pressure does not exert a protective influence in the case of experimentally induced gaseous gangrene produced by *Clostridium Welchii* in guinea-pig, and *Clostridium Novyi*. Although applications were repeated and the pressure of O^2 raised to 3 atmospheres, there was no protection when compared with the controls.

3) Active oxigen, obtained from a solution of sodium perborate injected *in loco* or intravenously and intraperitoneally in only one or in repeated doses, did not modify the course of the experimental infection of the guinea-pig with *Cl. Welchii* and *Cl. Novyi*.

BIBLIOGRAFIA

HUGEL, K., 1938, Zur Behandlung des Gasbrandes mit Sauerstoff. *Zbl. Chir.*, 65: 11-12.
OZORIO DE ALMEIDA, A., 1934, Recherche sur l'action toxique des hautes pressions d'oxygéne, *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 116: 1225-1227.
SEIFERT, E., 1938, Zur des Gasbrandes. Bemerkungem zur Veroffentlichung von A. Borchard und von K. Hugel. *Zbl. Chir.*, 65: 738-739.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 11-17
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

ACCION FOTODINAMICA DE LOS COLORANTES AZULES SOBRE EL BACTERIOFAGO [1]

OVIDIO SUÁREZ MORALES

Con el propósito de verificar la acción de diversos colorantes sobre el bacteriófago, efectuamos una serie de ensayos cuyos resultados resumimos en el presente artículo.

Ya D'Herelle en su libro sobre el comportamiento del bacteriófago, edición de 1926 (1) expone sus primeros ensayos hechos sobre el particular y deduce que los colorantes solo impiden la bacteriolisis cuando están en concentración suficiente para tener acción impediente sobre la bacteria.

En 1928 Schultz y Krueger (2) trabajando con dos razas de bacteriófago estáfilo, experimentan su acción frente a una lista numerosa de colorantes, no encontrando acción de estos hasta en relativa alta concentración, excepto con el azul de metileno que inactiva completamente en 6 a 12 hrs. en diluciones hasta de 1/50.000. Esta acción no la observan con otras razas de bacteriófago aunque admiten que puede extenderse a otras más. No sacan mayores conclusiones.

Dos años después son repetidos estos ensayos con el azul de metileno por Clifton y Lawrer (3) los cuales confirman los resultados y hallan igual acción con el azul de toluidina, aunque más debil; tratando de explicar su naturaleza admiten que puede ser un fenómeno de adsorción, concepto que es rectificado un año después por el primero de los autores (4), quien en un cuidadoso estudio prueba por primera vez que esta inactivación del bacteriófago se debe a la acción fotodinámica del azul de metileno. En todos estos experimentos trabajaron exclusivamente con bacteriófago estáfilo.

El fenómeno es detenidamente estudiado después por Pedran y Todd en 1933 (5). Estos pesquizadores trabajan con luz artificial y standarizan la técnica, determinando después el tiempo y concentración óptima en que se opera el fenómeno. Descubren así mismo una acción protectora contra el fenómeno por parte de los gérmenes vivos.

---

1 Recebido en el 31 Enero 1941.
Trabajo del Laboratorio de Bacteriologia del Instituto Oswaldo Cruz; dirección Dr. Genesio Pacheco.

Intentan reactivar el bacteriófago sin resultado y hacen algunos ensayos sobre la naturaleza de la luz que puede actuar, manifestando que a su juicio está confinada a ciertas longitudes de onda las cuales pueden ser absorvidas por la interposición de una solución de azul de metileno. Por último comprueban la necesidad de presencia de oxígeno para que se efectúe el fenómeno. Sus ensayos hacen con dos bacteriófagos estáfilo y uno disentérico Y. Una raza de bacteriófago coli ensayada provó ser resistente.

Merecen tanbién citarse los trabajos de WELLS y SHERWOOD (6 y 7) que muestran una acción selectiva del cristal violeta, verde brillante y violeta de genciana sobre varias razas de bacteriófagos, pero no en diluciones mayores de 1/5.000 a 1/10.000, existiendo además una correlación entre la acción de estos sobre el bacteriófago y sobre la correspondiente bacteria.

En nuestros ensayos trabajamos con dos razas de bacteriófago: una coli de título 10^{-7} y otra Flexner de título 10^{-9}. Los colorantes utilizamos a partir de las siguientes soluciones madres:

Azul de metileno Grubler (f. bact.), sol. acuosa 1 %
Eosina (W. Gelb.) Grubler, sol. acuosa 1 %
Fuchsina básica Grubler, sol. acuosa 1 % con 1 % de alcohol
Rojo neutro Hollborn y Sohne, sol. acuosa saturada
Fluoresceina Grubler, *suspensión* acuosa 1 %

Los primeros ensayos consistieron en hacer actuar el colorante separadamente sobre la bacteria y sobre el bacteriófago en diferentes concentraciones. Exceptuando la fuchsina ninguno de los colorantes ensayados inpidió el desarrollo de los gérmenes, coli y Flexner, hasta en concentraciones de 1 por mil; la fuchsina impidió en dilución de 1 por mil, pero no en mayores. Frente a los bacteriófagos el comportamiento de los colorantes ensayados fué igual. Dejados en contacto durante 24 hrs. en la mesa del Laboratorio y ensayado después su poder lítico, comprobamos que este no habia sido destruído excepto en los que estuvieron con fuchsina al 1 por mil, como en el caso de los gérmenes, no habiendo sido destruído frente a diluciones mayores. Para el azul de metileno los resultados fueron diferentes, pues con este colorante hasta en diluciones de 1 por cien mil los bacteriófagos eran inactivados en su poder lítico. Era evidente pues, que la inactivación se debia a la acción fotodinámica aunque no estuvieron sometidos a la acción directa de la luz solar.

Repetimos estos ensayos con el azul de metileno en doble serie, poniendo una en la oscuridad durante 24 hrs. y la otra exponiendo 1 hora a la luz directa del sol desde una habitación y las 23 hrs. siguientes en la mesa del Laboratorio. La inactivación fué franca con las dos razas de bacteriófagos en las series expuestas a la luz del sol mientras en las que permanecieron en la oscuridad el bacteriófago conservó su poder lítico integramente en todas las diluciones hechas. La

inactivación en la luz se notó más intensa en diluciones de 1/10.000 y 1/100.000.

Hasta aquí nuestros resultados no hicieron sino confirmar para las dos razas de bacteriófago ensayadas (coli y Flexner), los obtenidos por los autores anteriormente mencionados para bacteriófagos estáfilo y un disentérico Y.

Expusimos también una hora al sol una siembra de bacilos coli y otra de Flexner en caldo con azul de metileno en diluciones de 1/1.000, 1/10.000 y 1/100.000, no habiéndose obtenido ninguna destrucción ni menos impedimento en su desarrollo.

Ahora bien, qué propiedades del azul de metileno influyen o determinan este fenómeno? Hoy se conoce que la fotosensitización es un proceso de oxidación en que la sustancia sensitizante actúa como intermediaria en la fijación del oxígeno. Sin embargo, el fenómeno no debe ser tan simple y debe depender de otras circunstancias más, ya que otras sustancias capaces de producir oxidación, es decir, sustancias oxidantes, se comportan completamente inactivas en la fotosensitización. Según Blum (8) y otros, los colorantes fluorescentes son considerados altamente fotoactivos y pretenden relacionar a esta propiedad el fenómeno. La eosina principalmente es un poderoso fotosensitizante en organismos inferiores como protozoarios, así como en otros fenómenos como hemólisis etc. por acción fotodinámica; sin embargo su acción sobre el bacteriófago es nula.

A fin de conocer hasta qué punto se muestra incapaz de producir fotosensitización la eosina frente al bacteriófago, preparamos una solución acuosa al 10 % de este colorante y pusimos en contacto con el bacteriófago hasta en concentraciones de 1/200, exponiendo a la luz directa del sol durante 7 hrs. Tomamos muestras a cada hora y una última 24 hrs. después. La prueba de lisis mostró que en todas las muestras el bacteriófago permanecía activo.

Podemos admitir pues, que la fluorescencia de los colorantes en la acción fotodinámica de estos sobre el bacteriófago, parece no jugar ningún rol para determinar la producción del fenómeno.

Se puede desechar también la idea de que pueda deberse a la propiedad de colorante vital del azul de metileno que permitiría su fácil penetración, pues otros colorantes vitales como el rojo neutro tienen acción completamente nula.

Si de acuerdo con la ley de absorción de Grottus-Drapper, solo la luz que es absorvida es poseída de alguna actividad química, y, como ya adelantan algunos de los autores antes mencionados, que es la banda de absorción de azul de metileno la que actúa en este fenómeno, habría razones para suponer que los otros colorantes azules podían también tener alguna acción. Había además el antecedente del azul de toluidina que como ya dijimos se mostró fotosensitizante aunque con menos fuerza que el azul de metileno.

Preparamos con este objeto las siguientes soluciones madres:

Solución	acuosa	al	1	%	de: Azul de metileno Grubler
"	"	"	"	"	Azur I Grubler
"	"	"	"	"	Azur II Grubler
"	"	"	"	"	Azul agua (Wasserblau) Hollborn
"	"	"	"	"	Azul Victoria (Victoriablau) Grubler
"	"	"	"	"	Azul Nilo Grubler
"	"	"	"	"	Azul de anilina (Marine) Merck
"	"	"	"	"	Azul trypan (Trypanblau) Grubler
"	"	"	"	"	Azul de toluidina Grubler

Trabajamos con las mismas razas de bacteriófago: Flexner y coli, añadiendo el colorante de modo que quede en diluciones de 1/1.000, 1/10.000 y 1/100.000, haciendo dos series; una quedó en la oscuridad 24 hrs. y la otra fué expuesta a la luz directa del sol desde dentro de una habitación durante una hora, permaneciendo en la mesa del Laboratorio hasta completar las 24 hrs. en todos los ensayos empleamos los testigos necesarios como bacteriófago puro expuesto al sol etc. Medimos después su acción lítica en tubos con 5 c.c. de caldo pH. 7,6 en los cuales se sembró previamente una gota de cultivo en caldo de 24 hrs. del germen correspondiente. Las lecturas hicimos comparando con los testigos según se producía la lisis o no. Convencionalmente adoptamos los signos: +++, ++, +, — para expresar la inactivación completa, parcial o mínima y lisis total respectivamente. No tuvimos dificultad para hacer las lecturas en esta forma. La cantidad de material que hubiera demandado un dosaje en placas o por dilución nos obligó a adoptar este temperamento con el cual, por otra parte, satisfacíamos suficientemente las necesidades de nuestro ensayo. El cuadro siguiente resume los resultados obtenidos. Conviene aclarar que todos los ensayos del presente trabajo fueron hechos según esta técnica.

Aunque la acción impediente de los demás azules no es tan intensa como en el caso del azul de metileno y los azures, que tienen también dicho colorante en su composición, podemos deducir, sin tomar en cuenta otros factores como ser posiblemente la estructura molecular de la sustancia etc., que interviene en el fenómeno en forma previa el factor color que absorviendo una determinada longitud de onda, permite después que se opere la oxidación.

Es interesante observar en el cuadro, que el Azul Victoria que en solución tenía un tinte violáceo, se mostró inactivo como fotosensitizante, lo que refuerza el concepto de que el factor color es el previo en este caso.

Es un deber de nuestra parte dejar constancia de que, tanto la iniciativa del presente trabajo como las directrices, nos fueron dadas por el Dr. Genesio Pacheco, Jefe de Laboratorio del Instituto Oswaldo Cruz donde efectuamos todos estos ensayos y por cuyas enseñanzas y valiosos consejos le quedamos profundamente agradecidos.

PRUEBA DE INACTIVACIÓN DEL BACTERIÓFAGO CON LOS COLORANTES AZULES DESPUÉS DE UNA HORA DE EXPOSICIÓN AL SOL Y 23 HRS. EN LA MESA DEL LABORATORIO

Colorante	Bacteriófago	Dil. del colorante en el bacteriófago		
		1/1.000	1/10.000	1/100.000
Azul de metileno	Flexner	+ +	+ + +	+ + +
	Coli	+ + +	+ + +	+ + +
Azur I	Flexner	+	+ + +	+ + +
	Coli	+	+ + +	+ + +
Azur II	Flexner	+	+ + +	+ + +
	Coli	+	+ + +	+ + +
Azul agua	Flexner	+	+ +	+ +
	Coli	+	+ +	+ +
Azul Victoria	Flexner	—	—	—
	Coli	—	—	—
Azul Nilo	Flexner	+	+ +	+ +
	Coli	+ +	+ +	+
Azul de anilina	Flexner	+	+ +	+ +
	Coli	+ +	+ + +	+ + +
Azul trypan	Flexner	+ +	+ +	+ +
	Coli	+ +	+ +	+ +
Azul de toluidina	Flexner	+ +	+ +	+ +
	Coli	+ +	+ +	+ +

+ + + : inactivación completa
+ + : » parcial
+ : » pequeña (francamente perceptible)
— : no inactivación (lisis total)

Nota: El colorante azul Victoria tiene, en solución, un tinte violado por lo que, apesar de su nombre, podemos considerar en este caso que no es un colorante azul propiamente dicho.

CONCLUSIONES

1.º — Podemos dividir en tres grupos la forma en que actúan los colorantes sobre el bacteriófago:

a) — Los que tienen una acción nula hasta en altas concentraciones, ya sea sobre el bacteriófago así como sobre el desarrollo de su correspondiente gérmen. La acción fotodinámica en estos es nula. Comprenden entre otros la eosina, rojo neutro, fluoresceina.

b) — Los que tienen acción impediente en diluciones bajas, aproximadamente una media de 1/5.000, y cuya acción vá pareja a la que tienen sobre su correspondiente bacteria. Acción fotodinámica nula. Entre otros tenemos: fuchsina, violeta de genciana, cristal violeta, verde de metilo.

c) — Los que tienen acción fotodinámica en altas diluciones, generalmente de 1/10.000 y 1/100.000, inactivando el bacteriófago total o parcialmente. Entre tanto su acción en la oscuridad es nula para el bacteriófago, así como para su correspondiente germen tanto en la luz como en la oscuridad, por lo ménos en cuanto a su vitalidad y desarrollo. — Comprenden los colorantes azules, entre otros comprobamos para el azul de metileno, Azur I, Azur II, Azul agua, Azul Nilo, Azul de anilina, Azul trypan, Azul de toluidina.

2.° — La fluorescencia de los colorantes es un factor que parece no tener ningún valor en la acción fotodinámica de estos sobre el bacteriófago.

3.° — El factor color parece ser fundamental, y su rol sería el de absorver una determinada longitud de onda que es la que provoca después la inactivación del bacteriófago.

RESUMO

No seu modo de atuar sobre o bacteriófago distribuem-se os corantes em 3 grupos:

1) Corantes de ação destrutiva nula sobre o bacteriófago e sobre a bacteria correspondente: eosina, vermelho neutro, fluoresceina.
2) Corantes de ação destrutiva fraca, aproximadamente na dil. 1/5000 ao mesmo tempo pouco impedientes ao crescimento de bacteria correspondente. Tais corantes não possuem ação fotodinâmica: fucsina, violeta de genciana, cristal violeta, verde de metila.
3) Corantes dotados de ação fotodinâmica em altas diluições, de 1/10.000 a 1/100.000, inativando o bacteriófago total ou parcialmente até estas diluições, não impedindo, porém, o crescimento da bacteria correspondente. São os corantes azues: Azul de metileno, azul agua (Wasserblau), azur I, azur II, azul Nilo (Nilblau), azul de anilina, azul trypan, azul de toluidina.

A fluorescência não parece ter valor algum na ação destrutiva dos corantes sobre o bacteriófago.

Pelo contrario a cor parece elemento essencial na inactivação pelos corantes; sua relação seria a de atuar em determinado comprimento de onda na inativação.

ABSTRACT

In their behaviour toward bacteriophage, stains may be classed in three different groups, as follows:

1) Stains with no destructive action on bacteriophage and on the corresponding bacterium: Eosine, neutral red, fluoresceine.
2) Stains with a weak destructive action, aproximately in a dilution of 1/5.000, and at the same time hindering only slightly the growth of the corresponding bacterium. These stains have no photodynamic action: Fuchsine, gentian violet, crystal violet, methyl green.
3) Stains with photodynamic action in high dilutions, from 1/10.000 to 1/100.000, inactivating the bacteriophage totally or partially in these

dilutions, but they being not active with the corresponding bacterium and on the bacteriophage at dark. These are the blue stains: methylene blue, azur I, azur II, water blue (wasserblau), Nile blue (Nilblau), aniline blue, trypan blue, toluidine blue.

Fluorescence does not seem to play any part in the destructive action of the stains on bacteriophage.

On the contrary, color seems to be the essential element in the inactivation by stains, probably by acting on a certain wave length.

BIBLIOGRAFIA

1) — D'HERELLE, E., 1926, *The bacteriophage and its behaviour*, pag. 67, Baltimore.
2) — SCHULTZ, E. W. & KRUEGER, A. P., 1928, Inactivation of staphylococcus bacteriophage by methylene blue, *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, 26: 100-101.
3) — CLIFTON, C. E. & LAWRER, T. G., 1930, Inactivation of staphylococcus bacteriophage by toluidine blue, *Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y.*, 27: 1041-1042.
4) — CLIFTON, C. E., 1931, Photodynamic action of certain dyes on inactivation of staphylococcus bacteriophage, *Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y.*, 28: 745-746.
5) — PERDRAU, J. R. & TODD, C., 1933, Photodynamic action of methylene blue on bacteriophage, *Proc. Roy. Soc. B.*, 112: 277-287.
6) — WELLS, A. & SHERWOOD, N., 1933, Selective action of crystal violet and of brilliant green on bacteriophages. *J. infect. Dis.*, 55: 195-198.
7) — WELLS, A. & SHERWOOD, N., 1937, Selective action of Dyes and of others disinfectans on bacteriophages. *J. infect. Dis.*, 55: 195-198.
8) — BLUM, H., 1932, Photodynamic action. *Physiol. Rev.*, 12: 23-55.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 19-25
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SUR LES RÉFLÈXES DE LA QUEUE DU LÉZARD [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 3 figures)

Si l'on étudie les mouvements de la queue des Lacertiliens, après avoir coupé la moelle épinière dans la région dorsale afin d'éviter les mouvements volontaires, on constate deux ordres de phénomènes: 1) des mouvements spontanés, qui semblent tout d'abord automatiques; 2) des mouvements que l'on peut produire par des excitations, surtout mécaniques.

Les premiers furent signalés depuis longtemps par MARTIN (3). TARCHANOFF (4) a aussi étudié des phénomènes automatiques d'origine médullaire chez le Canard, en constatant qu'ils peuvent être inhibés par des excitations périphériques. Chez le Lézard, il a constaté que ces mouvements se montrent dans la queue, après la section de la moelle au-dessus du renflement lombaire en se présentant avec un caractère pendullaire. Ces mouvements, qui durent parfois des minutes entières, cèssent immédiatement si l'on pince une patte postérieure de l'animal. Il y a là donc un exemple simple et net d'une action inhibitoire. TARCHANOFF admettait que ces mouvements pendulaires sont dus à l'irritation produire par la section de la moelle. Il n'est pas arrivé à donner des preuves décisives de sa conclusion; il a constaté, cependant, que les mouvements sont beaucoup plus réduits quand la section de la moelle est faite à un niveau plus éloigné de la queue; les mouvements les plus intenses sont observés quand la ligne de section passe par le renflement lombaire.

En même temps que MARTIN et avant TARCHANOFF, R. DUBOIS (1) a démontré que les mouvements spontanés de la queue du Lézard sont dûs, en réalité, aux excitations crées par la lésion. Il opérait directement sur la moelle caudale; après l'avoir exposée, en ouvrant le canal vertébral, il la congélait au moyen d'un jet de chlorure d'éthyle. Non seulement les mouvements ne se produisaient pas, mais encore la section opérée dans la région congélée de la moelle, donc inexcitable,

1 Reçu le 7 Février 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.

laissait toujours la queue immobile. Une section chirurgicale faite au-dessous de la région, congélée donne lieu immédiatement aux mouvements pendulaires.

Dans nos recherches faites sur des Lacertiliens assez communs dans les environs de Rio de Janeiro (*Ameiva ameiva*) nous avons pu confirmer les résultats de R. Dubois. Nous avons opéré la section physiologique par deux méthodes différentes: ou par l'action du chlorure d'éthyle directement lancé sur la moelle mise à nu [2], ou par l'application d'une solution à 1 p. 100 de novocaïne, ce qui peut supprimer les fonctions médullaires dans un délai assez court.

Dans nos expériences, nous n'avons observé des mouvements spontanés de la queue que quand la section de la moelle était faite par des ciseaux ou par un bistouri. La section physiologique laisse la queue au repos. La section chirurgicale de la région anesthésiée ne donne lieu non plus à des mouvements pendulaires. Le rôle de l'irritation se manifeste aussi d'une autre manière: après la section chirurgicale, les mouvements qui se montrent tout de suite, s'atténuent et disparaissent au bout d'un certain temps. Si l'on fait alors une nouvelle section chirurgicale en un point plus bas que l'antérieur, on voit que les mouvements recommencent. On peut ainsi obtenir plusieurs séries de mouvements pendulaires par des sections successives.

La deuxième question — celle des mouvements réflèxes de la queue des Lacertiliens — n'a donné, à notre connaissance, lieu à aucun travail spécial. Ten Cate (5) a fait de nombreuses observations et expériences sur une espèce de Salamandre, le *Triton cristatus,* dont les réactions, comme nous le verrons, se rapprochent beaucoup de celles que nous avons pu observer nous-mêmes chez les Lacertiliens. Nous ferons donc un bref résumé des résultats obtenus par le physiologiste hollandais.

Ten Cate opérait la section de la moelle au niveau de l'articulation cranio-vertébrale et ne faisait ses expériences que trois ou quatre jours après. Comme stimulus, il employait des piqûres faites au moyen de l'esthésiomètre de von Frey, dont la tension peut être réglée à volonté. La pression exercée sur la peau était connue par un calibrage préalable de l'appareil.

Pour les réflèxes de la queue, il a constaté que, l'animal étant couché dans la position normale, c'est-à-dire, le ventre sur la table d'expérience, la queue étendue en prolongement de l'axe du corps, les résultats sont tout-à-fait différents pour les excitations faibles et moyennes et pour les excitations fortes. Les prémières donnent lieu à un mouvement de la queue vers le côté d'où vient l'excitation, comme si la finalité du réflèxe était d'écarter la source de l'excitation. Les exci-

---

[2] Comme nous le décrirons en détail dans un autre travail, le jet de chlorure d'éthyle sur la moelle découverte des Lézards de petite taille, produit immédiatement l'attaque épileptiforme par refroidissement, phénomène auquel nous avons déjà consacré plusieurs travaux. Chez les grands Lézards, le phénomène ne se produit pas. Dans nos expériences, les mouvements pendulaires étaient étudiés après la cessation de la période convulsive.

tations fortes, au contraire, produisent un mouvement dans la direction opposée; la queue fuit la source de l'excitation.

Si la queue est courbée, l'animal étant couché sur le ventre, quel que soit le côté excité, la queue accentue la courbure initiale, si le stimulus est faible; en d'autres termes, le mouvement se fait du côté concave. Les excitations fortes produisent la réaction opposée: la queue fait une courbure en sens inverse, ou même des mouvements oscilatoires répétés si l'intensité est très forte. Les résultats sont un peu différents, si l'animal, étant couché sur le flanc, la queue pend d'un côté de manière telle que les muscles de la queue de l'autre côté soient distendus. Les excitations moyennes produisent alors des réactions semblables à celles que l'on obtient par l'emploi des excitations fortes: la queue se rélève. Ten Cate ne dit rien au sujet des excitations faibles dans ces conditions.

En ce qui concerne les réflèxes de la queue de la Salamandre, les expériences de Ten Cate montrent donc que la zone excitée joue un certain rôle si la position de la queue est neutre: la réaction tend à écarter l'excitant si celui-ci est faible et le fuit s'il est fort. Pflüger dans des expériences bien connues avait vu seulement la réaction d'éloignement dans le cas des excitants thermiques. Ten Cate confirme les résultats de Luchsinger et apporte de nouvelles précisions. Luchsinger avait vu, en effet, que le sens des réactions dépend de l'intensité de l'excitant. Cependant, dans les expériences de Ten Cate, si la queue se présente dans une position courbée, ce qui produit la tension des muscles d'un côté et le relâchement des muscles de l'autre côté, cas semblable à celui des expériences classiques de von Uexküll et de Magnus sur d'autres réflèxes, le côté excité est indifférent. Le sens de la réaction n'est déterminé que par l'intensité de l'excitant. Cette influence tend à disparaître quand la queue est courbée passivement.

Nos expériences sur des Lézards appartenant à des espèces variées, nous ont permis de retrouver quelques'uns des résultats de Ten Cate et d'établir des faits nouveaux. Les animaux dont nous avons pu disposer étaient des spécimens de *Ameiva ameiva,* de *Tropidurus torquatus* et de *Tupinambis teguixin.* Le dernier exemplaire de *Tupinambis* était un animal de grande taille. Il pesait 1570 grs. La longueur de la queue était de 58 cms. et l'ensemble du corps et de la tête mesurait, de l'extrémité du museau à la racine de la queue, 28 cms. La longueur totale de l'animal était donc de 86 cms. Les *Tropidurus* sont de taille beaucoup plus petite et l'*Ameiva,* un animal très beau par sa forme et par sa couleur, a des dimensions intermédiaires entre les deux autres.

On opérait toujours la section de la moelle au niveau de la région dorsale et on attendait une heure environ avant de commencer l'observation des réflèxes. Comme stimulus, nous avons employé toujours des excitants mécaniques: dans quelques cas, on comprimait la queue entre les branches d'une pince révêtues de caoutchouc ou sans aucune protection. De cette manière on produisait une excitation bilatérale destinée à éliminer l'influence de l'excitation d'un seul côté. La plupart

des fois, cependant, on pinçait la queue entre la partie palmaire de l'indicateur et l'ongle du pouce de l'observateur. L'excitation est alors faite par la pression de l'ongle; elle est donc unilatérale. On peut régler l'intensité avec assez de finesse et la juger par les effets obtenus. Dans certains cas, nous avons employé comme excitant, des piqûres d'épingle. Les résultats obtenus peuvent être résumés comme il suit.

1). La queue est étendue en continuation de la ligne longitudinale du corps, l'animal étant couché sur une table ou suspendu verticalement: les excitations faibles donnent des réflèxes qui se traduisent par le mouvement de la queue dans la direction de l'excitant. Les excitations fortes donnent lieu à des mouvements en sens inverse. Nous retrouvons donc les faits décrits par TEN CATE.

2). La queue est courbée, l'animal étant couché sur la table. Comme TEN CATE l'a observé, les excitations faibles, quel que soit le point d'application, exagèrent la courbure (fig. 1, a); les excitations fortes donnent lieu à un mouvement en sens inverse (fig. 1 b). Ici se présente un fait qui, probablement, ne pouvait pas être observé chez les Tritons, étant donnée la petite longueur de la queue de ces animaux. Avec les grands *Tupinambis,* dont la queue a plus d'un demi-mètre de longueur, on peut placer l'organe de manière telle qu'il fasse une courbe compliquée, ayant un ou deux points d'inflexion (fig. 2, a); les excitations fortes donnent lieu à des mouvements complèxes: les parties convèxes deviennent concaves, et inversement; la queue va s'arrêter dans une position qui est sensiblement l'image au miroir de la position initiale.

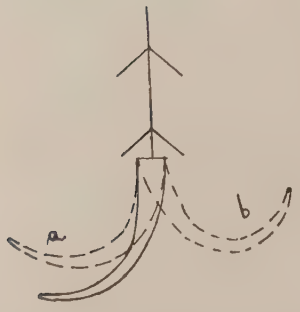


Fig. 1

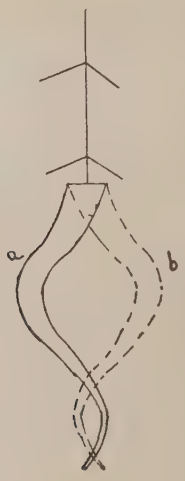


Fig. 2

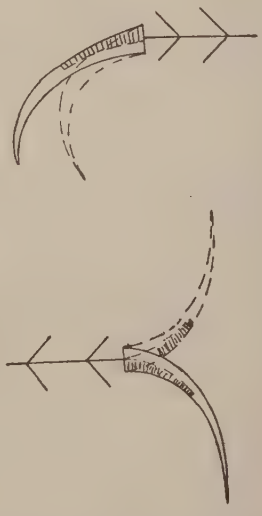


Fig. 3

3). L'animal est maintenu dans une position latérale, couché sur le flanc sur une table ou suspendu dans l'air par un aide. Ici, nos ré-

sultats ne sont pas tout-à-fait d'accord avec la description de Ten Cate. Les excitations faibles, la plupart des fois, donnent aussi lieu à des mouvements qui éxagèrent la courbure préalable (fig. 1, a); les excitations fortes produisent invariablement des mouvements de redressement énergique de la queue (fig. 1, b) [3]. Pour les excitations faibles, cependant, les résultats ne sont pas toujours uniformes et il est parfois difficile de décider s'il y a encore une certaine influence de la localisation du stimulus.

4). Les réflèxes de la queue présentent un dégré de fatigabilité assez marqué. Après un certain nombre d'excitations et de réactions, il faut laisser l'animal au repos pour quelque temps.

5). Les Lézards présentent des réactions de la queue dans plusieurs plans, au contraire de la Salamandre, qui ne peut avoir des mouvements de la queue que dans le plan transversal du corps (Pflüger). Les réactions dans le plan vertical qui passe par l'axe du corps suivent les mêmes règles que celles que nous venons d'exposer.

Il était très important de vérifier si l'influence de la position de la queue est dûe à la distension des muscles ou à l'état de plus ou moins grande tension de la peau. Voici quelques'uns des résultats obtenus dans nos expériences.

Le 17 Novembre 1940. — *Tupinambis teguixin*. Moelle coupée dans la région dorsale. Après avoir étudié les réflèxes de la queue, nous avons laissé l'animal au repos pendant une heure. Les réflèxes se montraient ensuite avec une grande vivacité. Nous avons alors enlevé la peau du côté gauche de la queue dans une longueur d'un tiers de l'organe (tiers supérieur). L'opération doit se faire avec soin, étant données les adhérences de la peau. L'animal étant placé dans la position figurée en bas de la fig. 3, la partie normale de la queue tournée vers le haut, les réactions furent identiques à celles antérieurement décrites. L'animal étant couché sur le flanc droit, la partie écorchée placée comme dans la fig. 3, en haut la réaction vers le haut ne se produit pas; au contraire, il y a toujours la réaction vers le bas, que l'on obtient en général avec les excitations faibles.

On peut observer aussi que la partie de la queue qui conserve sa peau intacte, réagit suivant les règles normales. Ainsi, si la queue est placée dans une position telle que la partie intacte présente elle aussi une courbure, il n'y a pas de réaction vers le haut de la partie écorchée, mais on observe une réaction d'extension de la partie normale. Ayant enlevé la peau de la partie droite, le tiers supérieur de la queue est resté sans peau. Les réactions ne suivaient plus de règles précises et définies.

Le 28 Janvier 1941. *Tropidurus torquatus*. L'animal entier avait la peau de la partie gauche, les excitations de l'extrémité de la queue Moelle coupée préalablement dans la région dorsale. Dans la deuxième

---

3 Pour ne pas multiplier les figures nous reportons à la fig. 1. Il suffit de tourner la page de 90.° à gauche pour avoir exactement les conditions ici décrites.

partie de l'expérience, nous avons enlevé la peau de toute la partie droite de la moitié supérieure de la queue. On a observé les mêmes réactions que celles décrites dans l'expérience antérieure. En enlevant la peau de la partie gauche, les excitations de l'extrémité de la queue donnent lieu à des réactions indifférentes, peut-être avec une tendance à se faire plutôt du côté concave. Ces réactions sont, cependant, assez intéressantes, puisqu'elles démontrent que les réflèxes de la queue persistent après l'enlèvement de la peau. La différence essentielle consiste en ceci qu'ils ne suivent plus les règles habituelles.

Ces expériences nous démonstrent ainsi, que, dans le cas des Lézards, la position des organes de réaction, qui exerce une influence prédominante sur le sens des réactions, donc sur le tonus des centres nerveux, agit essentiellement par des excitations d'origine cutanée. R. Magnus (2), qui a étudié l'influence de la position sur l'orientation des réflèxes de la queue du Chat, croit avoir démontré que les excitations sont d'origine propriocéptive. Nous nous proposons d'approfondir cette question dans un travail prochain.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans ce travail, nous exposons les résultats des expériences réalisées sur les réflèxes de la queue de plusieurs espèces de Lézards, dont la moelle épinière a été préalablement coupée. L'orientation de la réaction dépend de trois facteurs: 1) le point d'application du stimulus; 2) l'intensité de l'excitation; 3) la position de la queue au moment même où l'on produit l'excitation.

Le point d'application du stimulus (côté gauche ou droit) ne montre nettement son influence que si la queue est dans une position neutre sans aucune courbure, en prolongement de la ligne longitudinale du corps.

La queue étant courbée, les excitations faibles produisent, en général, une courbure encore plus marquée, et les excitations fortes un mouvement qui donne comme résultat une courbure du segment de la queue en sens opposé.

Les excitations qui déterminent le sens des réactions suivant la position de la queue sont d'origine cutanée. L'ablation unilatérale de la peau fait disparaître les réactions d'extension dûes à des contractions des muscles exposés; ces muscles conservent cependant leur capacité fonctionnelle et réagissent dans l'éxécution de plusieurs formes de réflèxes indéterminés.

Les mouvements pendulaires qui se produisent après la section de la moelle épinière et ne sont pas provoqués par des excitations extérieures, ce qui leur donne l'aspect de mouvements automatiques, sont, en réalité, dûs à l'excitation des centres qui résulte de l'opération faite sur la moelle. Ils ne se montrent pas si la section est faite par la congélation ou l'anesthésie locale.

RESUMO E CONCLUSÕES

Nêste trabalho, os autores expõem os resultados de experiências realizadas sobre os reflexos da cauda de várias espécies de Lacertilios, cuja medula espinhal foi previamente cortada. A orientação da reação depende de tres fatores: 1) o ponto de aplicação do estímulo; 2) a intensidade da excitação; 3) a posição da cauda no momento em que se produz a excitação.

O ponto de aplicação do estímulo (lado esquerdo ou direito) só manifesta sua influência quando a cauda se acha em uma posição neutra, sem nenhuma curvatura, em prolongamento da linha longitudinal do corpo.

Estando encurvada a cauda, as excitações fracas produzem, regra geral, uma curvatura mais acentuada ainda, e as excitações fortes um movimento que dá em resultado uma curvatura do segmento de cauda em sentido oposto.

As excitações que determinam o sentido das reações segundo a posição da cauda são de origem cutânea. A ablação unilateral da pele da cauda faz desaparecerem as reações de extensão devidas a contrações dos músculos expostos; entretanto, êsses músculos conservam sua capacidade funcional e reagem na execução de várias formas de reflexos indeterminados.

Os movimentos pendulares que se mostram após a seção da medula espinhal e não são provocados por excitações exteriores, o que lhes dá a aparência de movimentos automáticos, são, na realidade, devidos à irritação dos centros, que resulta da operação feita sobre a medula. Não se mostram eles quando a seção é feita por congelação ou anestesia local.

BIBLIOGRAPHIE

1. DUBOIS, R., 1893, Sur les mouvements de la queue coupée du Lézard anesthésié. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 45: 915-917.
2. MAGNUS, R., 1924, *Korperstellung*. Berlin, J. Springer, cf. pag. 42.
3. MARTIN, H., 1893, Sur les mouvements produits par la queue du Lézard, après anesthésie. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 45: 854-856.
4. TARCHANOFF, J. DE, 1895, Mouvements forcés des Canards décapités. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 47: 454-458.
5. TEN CATE, J., 1928, Contribution à la Physiologie de la Moelle épinière chez *Triton cristatus*. *Arch. Néerl. Physiol.,* 12: 213-253.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 27-30
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE UMA NOVA ESPÉCIE BRASILEIRA DO GÊNERO "CONDYLOSTYLUS" BIGOT (Diptera: Dolichopidæ) [1]

J. F. TEIXEIRA DE FREITAS e H. DE SOUZA LOPES
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 25 figuras no texto)

Condylostylus lutzi n. sp.

Espécie grande; antenas negras; palpos pretos; 4 cerdas dorso-centrais; azas com 2 faixas escuras reunidas anteriormente até R_{4+5}; coxas anteriores e todos os fêmures amarelos; tíbia II não ciliada; tíbia III mais longa que duas vezes o comprimento do metatarso; *forcipes superiores* curtos.

Macho — Comprimento total: 8 mm.

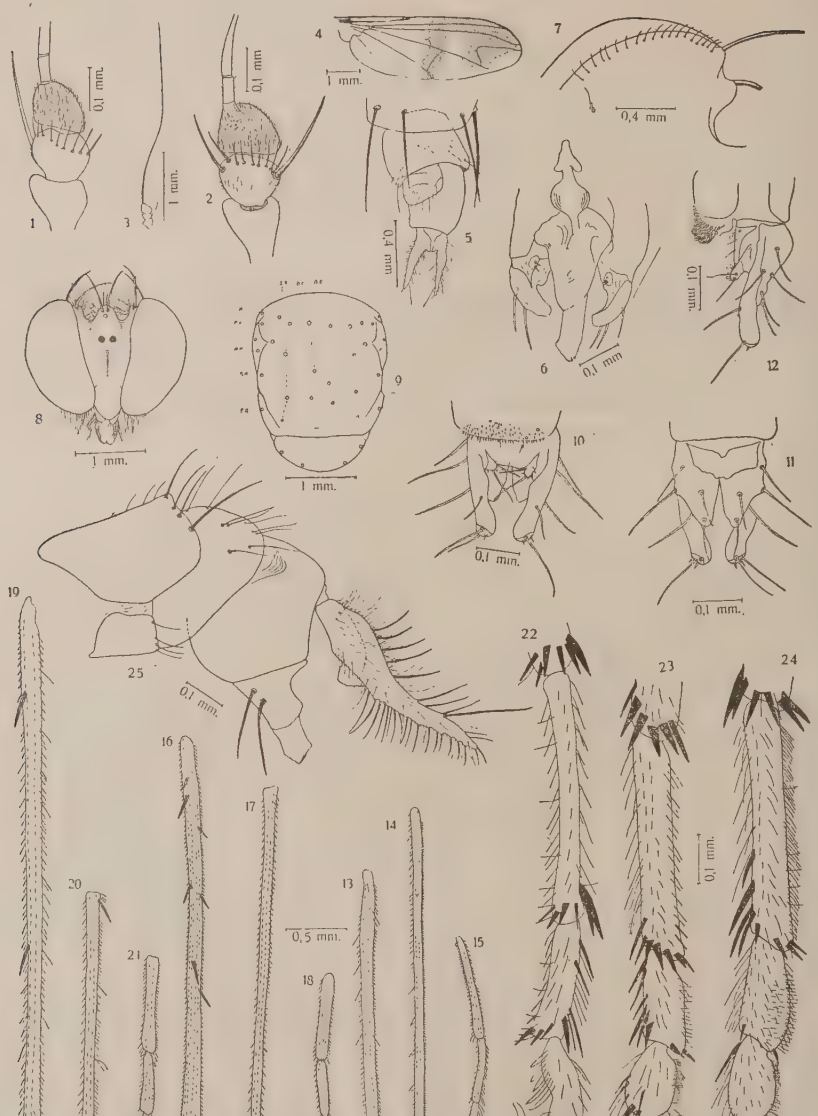
Cabeça com brilho verde metálico, provida de polinosidade prateada. Cerdas ocelares e verticais pretas e robustas. Distância entre as cerdas verticais internas cerca de 0,34 da largura da cabeça. Pêlos verticais brancos, com exceção de dois pêlos situados na face posterior do tubérculo ocelar e de alguns outros situados logo atrás das cerdas verticais internas, que são pretos. Cerdas verticais externas situadas em grande tubérculo. Cílios post-oculares pequenos, aproximados, pretos, sendo brancos todos os outros pêlos da parte posterior da cabeça. Antenas com artículos sub-iguais, pretas, com o terceiro artículo mais claro e o segundo com uma coroa distal de cerdas pretas, sendo que ventral e dorsalmente ha sempre uma cerda mais longa que as demais. Arista quasi apical. Tromba amarela, com raros pelinhos escuros. Palpos pretos, com algum brilho metálico e com tres longas cerdas pretas, além de alguns pêlos delgados e brancos.

Torax com brilho metálico. Pleuras com densa polinosidade prateada. Ha 3 cerdas acrosticais, 4 dorso-centrais, 2 intra-alares, 1 humeral, 1 post-humeral, 1 supra-alar, 1 post-alar e 2 noto-pleurais. Escutelo com 2 pares de cerdas marginais.

Azas com duas faixas escuras na metade apical, que se unem anteriormente até R_{4+5}. A metade basal é amarelada, principalmente junto à nervura costal. Ha uma pequena mancha escurecida no apice de R_1. A nervura costal tem uma cerda muito mais longa que as demais, situada um pouco antes da desembocadura da transversa humeral, onde a costal é interrompida. Calípteros com pêlos longos, que são pretos dorsalmente e claros na face ventral, dispostos em leque e em uma só série. Balancins escuros, principalmente no ápice.

Coxa I amarela, com pelinhos claros e 3 fortes cerdas pretas na face anterior. Coxa II escurecida, com pêlos claros na face anterior, 2 cerdas pretas

1 Recebido para publicação a 10 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.



Condylostylus lutzi n. sp. Fig. 1 — Antena do macho, face interna. Fig. 2 — Antena do macho, face externa. Fig. 3 — Antena do macho. Fig. 4 — Aza do macho. Fig. 5 — Genitália do macho, vista dorsal. Fig. 6 — Penis. Fig. 7 — Cabeça do macho, vista posterior, para mostrar a fileira de cílios post-oculares. Fig. 8 — Cabeça do macho, vista anterior. Fig. 9 — Torax do macho: AC — acrosticais; DC — dorso-centrais; IA — intra-alares; H — humeral; PH — post-humeral; NP — noto-pleurais; SA — supra alares; PA — post-alares. Fig. 10 — Genitália da fêmea, vista ventral. Fig. 11 — Genitália da fêmea, vista dorsal. Fig. 12 — Genitália da fêmea, vista lateral. Fig. 13 — Tíbia I do macho. Fig. 14 — Metatarso I do macho. Fig. 15 — 4 últimos segmentos do tarso I do macho. Fig. 16 — Tíbia II do macho. Fig. 17 — Metatarso II do macho. Fig. 18 — 4 últimos segmentos do tarso II do macho. Fig. 19 — Tíbia III do macho. Fig. 20 — Metatarso III do macho. Fig. 21 — 4 últimos segmentos do tarso III do macho. Fig. 22 — 3 últimos segmentos do tarso I do macho. Fig. 23 — 3 últimos segmentos do tarso II do macho. Fig. 24 — 3 últimos segmentos do tarso III do macho. Fig. 25 — Genitália do macho, vista lateral. Figuras 13 a 18 na mesma escala (0,5 mm.); 22 a 24 na mesma escala (0,1 mm.).

abaixo do meio e numerosos pêlos pretos apicais, sendo nuas as outras faces. Coxa III escurecida, com a face externa coberta de pêlos brancos e com 1 longa e delgada cerda preta, mediana; a face anterior apresenta 1 delgada cerda preta, apical.

Femur I amarelo, dorsalmente coberto de pêlos curtos e pretos, e ventralmente com pêlos longos e claros, além de uma pequena série de pêlos pretos no ápice. Fêmures II e III amarelos, sendo êste um pouco escurecido no ápice, semelhantes, com os pêlos claros da face ventral menores e menos numerosos que no femur I.

Tíbia I amarela, tendo na face anterior 1 cerda basal, na face dorsal 1 cerda mediana e 1 basal, ambas podendo faltar; a face ventral apresenta pêlos um pouco mais longos que os das outras faces, distinguindo-se entre eles 4 ou 5 mais desenvolvidos. Tíbia II amarela, face anterior com 1 cerda basal e 1 pouco acima do meio, face posterior com 2 cerdas, sendo uma basal e outra pouco acima do meio, face ventral com 3 cerdas, sendo a inferior a mais desenvolvida. Tíbia III mais escurecida que as outras, principalmente no ápice, com 1 cerda basal e um pouco abaixo do meio na face anterior; faces dorsal e ventral com algumas cerdas um tanto mais longas, que se diferenciam das demais.

Metatarso I amarelo, com ápice escurecido, bem mais longo que a tíbia e com algumas cerdas pequenas na face ventral. Artículos II a V quasi pretos. Metatarso II com cerca do mesmo comprimento da tíbia II, fortemente enegrecido no ápice e com algumas cerdas pequenas na face ventral. Os demais artículos são enegrecidos. Tarso III preto, um pouco mais claro na base do metatarso, onde ha uma cerda mais desenvolvida que as demais.

Abdomem — 1.º segmento: tergito com brilho verde metálico, possuindo pêlos claros, longos e abundantes, e 2 a 4 cerdas dorsais, pretas e longas. 2.º segmento: tergito com o quarto basal verde metálico, coberto de polinosidade prateada; o restante sem polinosidade, verde metálico apicalmente e com uma faixa pardacenta mediana; ha uma série de 6 cerdas dorsais, eretas, pretas e longas, além de pêlos dorsais, pretos e curtos, e pêlos laterais, claros e longos. 3.º, 4.º e 5.º tergitos com brilho verde metálico, com a base pardacenta, com 6 cerdas eretas, pretas e longas, na margem posterior, e com pêlos dorsais, pretos e curtos. No 3.º tergito ha pêlos laterais, longos e claros; no 4.º êsses pêlos se tornam muito reduzidos e só existem na parte anterior e no 5.º ha apenas dois ou tres pêlos claros anteriores, situados lateralmente. 6.º tergito inteiramente com brilho metálico, coberto de pêlos pretos, possuindo ainda uma série de 6 cerdas marginais. Esternitos com pêlos claros e delgados. No 2.º esternito êsses pêlos são mais longos que nos outros segmentos, principalmente na metade basal.

Genitália preta, com alguns pêlos diferenciados no ápice do 1.º segmento, que apresenta um tergito bem desenvolvido; 2.º segmento reduzido, com pêlos longos e delgados, visivel apenas pelo lado esquerdo; 3.º segmento sem pêlos. *Fórcipes superiores* (lamelas externas) curtos e delgados, com pêlos fortes inseridos em tubérculos, de coloração um pouco mais clara que a dos segmentos genitais. *Fórcipes inferiores* (lóbulo basal) pretos e com 2 ou 3 longas cerdas basais, na face externa. Penis preto, muito quitinizado, com a parte livre cilíndrica, de base alargada, com apodema bem distinto.

Fêmea — Comprimento total: 7 mm.

Semelhante ao macho, com os pêlos do vertex muito reduzidos, havendo no tubérculo ocelar e no tubérculo de implantação das cerdas verticais externas raros pelinhos claros, muito curtos, além de 2 pêlos pretos situados logo atrás das cerdas ocelares. Os cílios dos calípteros tendem a se tornar mais pretos, com diminuição dos cílios brancos ventrais. Nos fêmures os pêlos ventrais, claros, são muito curtos. Os pêlos longos e claros situados nos lados do abdomem só

são presentes no 1.º segmento e a região pardacenta na base dos segmentos 3-5 é muito reduzida.

Holotipo macho, do Rio de Janeiro, D. F. (Grajaú), 9-XII-940 (N.º 10060); alotipo fêmea, da mesma proveniência e mesma data (N.º 10064); paratipos: 3 machos e 3 fêmeas, do Rio de Janeiro, D. F., (Grajaú), 5-IV-938, 1-XII-940, 8-XII-940, 9-XII-940; 1 fêmea do Rio de Janeiro, D. F., (Gávea), 4-III-937; 1 macho e 1 fêmea de Palmeiras, Estado do Rio, 7-I-939; 1 fêmea de Angra dos Reis (Japuiba), Estado do Rio, X-936 (Ns. 10049-10051, 10061-10063, 10065-10068). Paratipos não numerados: 2 machos e 2 fêmeas do Rio de Janeiro, D. F., (Grajaú), 14-XI-937, 8-XII-940; 2 fêmeas do Rio de Janeiro, D. F., (Corcovado), I-931, V-936. Exemplares numerados incluidos na coleção de dípteros do Instituto Oswaldo Cruz (Seção de Helmintologia).

Condylostylus lutzi n. sp. aproxima-se de *C. imperator* (Aldrich, 1904), *C. productipes* Parent, 1934 e *C. cinctiventris* Van Duzee, 1934, das quais se distingue pela genitália do macho e pelas relações dos segmentos das patas.

Não obtivemos o trabalho original de Aldrich (1904) onde é descrito *C. imperator,* porem comparamos nossa espécie com a descrição e figuras feitas por Becker (1921), que estudou 4 exemplares (1 macho e 3 fêmeas) provenientes da Bolívia e 1 outro, do qual não refere o sexo, proveniente do Perú. Diz Becker que seus exemplares vão, com facilidade, pela chave de determinação de Aldrich, a *C. imperator,* embora haja uma discordância na coloração dos cílios dos calípteros, que são totalmente pretos em seu material, ao passo que Aldrich refere cílios brancos, somente pretos em cima. Concordamos com a opinião de Becker, não levando em consideração esta diferença para a identidade dos exemplares, porquanto no material que estudamos de *C. lutzi* n. sp., com predominância de cílios pretos no dorso e ventralmente brancos, notamos sempre uma variação que tende a diminuir os cílios brancos, variação esta mais nítida nas fêmeas.

ABSTRACT

The authors describe *Condylostylus lutzi* n. sp. from Rio de Janeiro, D. F. and Estado do Rio (Palmeiras e Angra dos Reis). The new species is near *C. imperator* (Aldrich, 1904), *C. productipes* Parent, 1934 and *C. cinctiventris* Van Duzee, 1934. It differs by the shape of the male genitalia and the length of the segments of the legs.

BIBLIOGRAFIA

ALDRICH, J. M., 1904, A contribution to the study of American *Dolichopodidæ, Trans. Amer. Ent. Soc. Phila.,* 30: 269-286.
BECKER, TH., 1921, Dipterologische Studien. *Dolichopodidæ.* B. Nearktische und Neotropische Region, *Abh. Zool.-Bot. Gesell. Wien,* 13: 1-396, 147 figs.
PARENT, O., 1929, Clé de détermination des males des espèces néarctiques et néotropicales réunies du genre *Condylostylus* Bigot (sensu Becker), *Ann. Soc. Sc. Bruxelles,* ser. B., 49: 74-87.
PARENT, O., 1934, Espèces nouvelles de diptéres *Dolichopodidæ, Encycl. Ent.,* ser. B., 7: 113-140, 47 figs.
VAN DUZEE, M. C., 1934, *Dolichopidæ,* in Curran, C. H., The Diptera of Kartabo, Bartica District, British Guiana, *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 66: 365-374, 10 figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 31-40
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE ALGUNS TREMATÓDEOS PARASITOS DE RÃS [1]

J. F. TEIXEIRA DE FREITAS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 30 figuras no texto)

Em Janeiro de 1938 tivemos oportunidade de examinar, com o professor Travassos e o Dr. Herman Lent, 20 exemplares de *Rana pipiens* provenientes da America do Norte, oferecidos gentilmente ao Laboratório de Helmintologia pelo prof. Miguel Ozorio de Almeida, que as recebera daquele país. O material helmintológico obtido nestas autópsias permitiu-nos já, em colaboração com H. Lent, um interessante estudo sobre o *Cephalogonimus americanus* Stafford, 1902, além de outros helmintos que serão estudados oportunamente. Obtivemos de um dos especimens um exemplar do *Glypthelmins subtropica* Harwood, 1932, que redescrevemos no presente artigo.

Em outubro dêste mesmo ano o Instituto Oswaldo Cruz enviou à região do Estado de Mato Grosso percorrida pela Estrada de Ferro Noroeste do Brasil uma comissão de pesquisas, da qual fizemos parte. O exame parasitológico de duas espécies de rãs — *Leptodactylus ocellatus* e *Leptodactylus caliginosus* — forneceu aos técnicos do Instituto abundante material de estudo, do qual se destacavam logo numerosos exemplares de *Glypthelmins palmipedis* (Lutz, 1928), que agora estudaremos.

Logo após a nossa volta ao Instituto Oswaldo Cruz recebemos 17 especimens de *L. ocellatus* provenientes de Montevidéu (Uruguái), trazidos pelo prof. Miguel Ozorio de Almeida, que nos facilitou os exames parasitológicos. Destas últimas rãs obtivemos, com H. Lent, um material extremamente abundante, parte do qual já foi estudado por nós em colaboração com êste pesquizador. As demais espécies de trematódeos — *Glypthelmins palmipedis* (Lutz, 1928), *Glypthelmins simulans* n. sp., *Glypthelmins proximus* n. sp. e *Plagiorchis lenti* n. sp. — são agora estudadas.

Além dêste riquissimo material ainda pudemos examinar os tipos de *G. palmipedis*, existentes na coleção do prof. Adolpho Lutz.

---

1 Recebido para publicação a 10 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Plagiorchis lenti n. sp.

(Figs. 1-8)

Corpo alongado, com extremidades fracamente atenuadas, medindo 2,38 a 5,69 mm. de comprimento por 0,67 a 1,17 mm. de maior largura. Cutícula espinhosa. Ventosa oral subterminal, com 0,30 a 0,50 mm. de diâmetro. Acetábulo menor que a ventosa oral, preequatorial, com 0,15 a 0,25 mm. de diametro. A relação entre as ventosas é de 1:2. Faringe presente, com 0,10 a 0,22 mm. de comprimento por 0,15 a 0,31 mm. de largura. Esôfago curto. Cecos longos, mais ou menos delgados, terminando a 0,22 a 0,31 mm. da extremidade posterior do corpo. Poro genital geralmente submediano, logo acima da borda anterior do acetábulo. Bolsa do cirro alongada, ultrapassando a região acetabular, com 0,50 a 1,16 mm. de comprimento por 0,08 a 0,17 mm. de largura, contendo cirro, próstata e vesícula seminal bem desenvolvida e lobada. Testículos mais ou menos arredondados, postacetabulares, postovarianos, com campos em contato ou um pouco afastados e zonas parcialmente coincidindo. O testículo anterior

Plagiorchis lenti n. sp. — Figs. 1 a 6 — Aspecto total, vista ventral.

mede 0,28 a 0,35 mm. de comprimento por 0,22 a 0,27 mm. de largura. O testículo posterior tem 0,23 a 0,33 mm. por 0,17 a 0,35 mm. Ovário geralmente arredondado, pretesticular, comumente postacetabular, com 0,15 a 0,30 mm. de comprimento por 0,13 a 0,38 mm. de largura. Espermateca ausente. Glândula de Mehlis pouco desenvolvida, situada na região do ovário. Vitelinos constituidos por folículos geralmente bem desenvolvidos, que se extendem da zona da bolsa do cirro para trás, terminando a 0,47 a 1,67 mm. da extremidade posterior

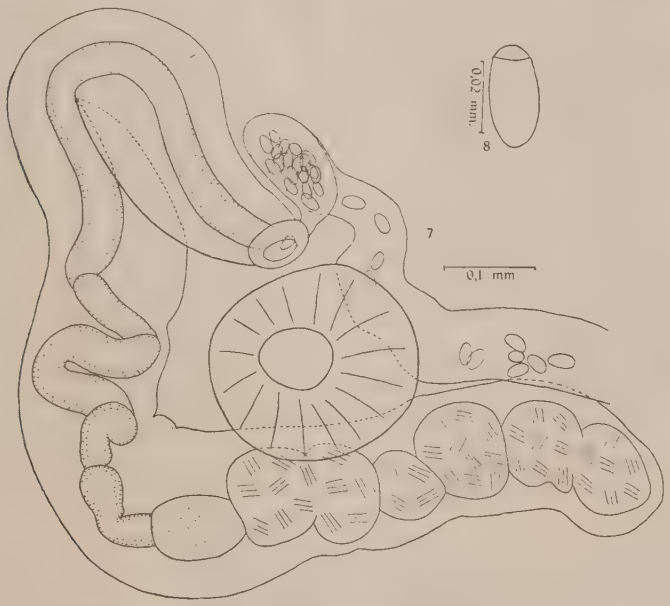
do corpo, ocupando as áreas extracecais e cecais. Utero constituido de um ramo descendente e outro ascendente, ambos com alças transversais. Ovos amarelados, de casca espessa, operculados, com 0.029 a 0,036 mm. de comprimento por 0,015 a 0,017 mm. de largura. Poro excretor subterminal, ventral. Sistema excretor em Y.

HABITAT — Intestino delgado, raramente estômago, de *Leptodactylus ocellatus* (L.).

PROVENIÊNCIA — Montevidéu, Uruguái.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Examinamos numerosos exemplares desta espécie. Aproxima-se ela de *P. ramlianus* (Looss, 1896), *P. himalayai* (Jordan, 1930) e *P. momplei*



Plagiorchis lenti n. sp. — Fig. 7 — Região da bolsa do cirro; fig. 8 — Ovo.

(Dollfus, 1932), das quais, entretanto, se distingue com facilidade pelo aspeto dos vitelinos.

A Herman Lent, nosso companheiro de estudos, dedicamos a espécie.

Glypthelmins palmipedis (Lutz, 1928)
(Figs. 9-17)

Sin. — *Metorchis leptodactylus* Savazzini, 1930, pp. 40-41, 1 fig.
Meorchis leptodactylus Savazzini, 1930, p. 42 (erro).

Corpo mais ou menos alongado, com extremidades fracamente atenuadas, sendo a posterior geralmente menos larga que a anterior. Mede de comprimento 3,35 a 8,88 mm. e de maior largura 0,94 a 2,08 mm. Cutícula espinhosa. Ventosa oral subterminal, relativamente grande, com 0,43 a 0,70 mm. de compri-

mento por 0,41 a 0,73 mm. de largura. Acetábulo menor que a ventosa oral, preequatorial, com 0,22 a 0,40 mm. de diâmetro. A relação entre as ventosas varia de 1:2 a 3:5, sendo geralmente de 1:2. Faringe presente, com 0,25 a

Glypthelmins palmipedis (Lutz, 1928) — Figs. 9 a 15 — Aspecto total, vista ventral. Original; fig. 16 — Região da bolsa do cirro. Original; fig. 17 — Ovo.

0,45 mm. de comprimento por 0,27 a 0,48 mm. de largura. A relação entre o faringe e a ventosa oral é aproximadamente de 2:3. Esôfago presente, curto. Cecos intestinais longos, extendendo-se até 0,13 a 0,46 mm. da extremidade posterior do corpo. Poro genital situado logo acima da borda anterior do acetábulo, geralmente mediano, raramente submediano. Bolsa do cirro mais ou menos sacciforme, situada na região acetabular, geralmente, em grande parte, adiante do acetábulo, medindo 0,36 a 0,80 mm. de comprimento por 0,18 a 0,22 mm. de maior largura, contendo cirro, região prostática e vesícula seminal dobrada. A relação entre a bolsa do cirro e o acetábulo é aproximadamente de 1:2 a 2:3, sendo geralmente de 1:2. Testículos mais ou menos arredondados, às vezes subtriangulares, lisos ou um pouco lobados, postacetabulares, postovarianos, com campos geralmente afastados e zonas afastadas, em contato ou parcialmente coincidindo. O testículo anterior mede 0,27 a 0,48 mm. de comprimento por 0,28 a 0,60 mm. de largura; o posterior tem 0,27 a 0,50 mm. por 0,27 a 0,51 mm. Ovário mais ou menos arredondado, pretesticular, geralmente situado logo atrás do acetábulo, podendo invadir a área acetabular, no campo do testículo posterior, medindo 0,23 a 0,53 mm. de comprimento por 0,27 a 0,55 mm. de largura. Espermateca presente, situada ao lado e um pouco para trás do ovário, com 0,08 a 0,18 mm. de comprimento por 0,07 a 0,20 mm. de largura. Glândula de Mehlis fracamente evidenciada, situada na região da espermateca. Vitelinos constituidos por folículos bem desenvolvidos, mais ou menos confluentes, extendendo-se da região postbifurcal ou acetabular até o terço posterior do corpo, terminando a uma distância variavel de 0,47 a 2,24 mm. da extremidade posterior do corpo, ocupando geralmente as áreas extracecais e cecais, raramente atingindo a área intracecal. Útero constituido por um ramo descendente que vem da região do ovário para a extremidade posterior do corpo, e outro ascendente que vai daí para o poro genital, ambos formando alças transversais mais ou menos pronunciadas. Ovos amarelados, operculados, relativamente pequenos, com 0,025 a 0,034 mm. de comprimento por 0,013 a 0,017 mm. de largura. Poro excretor subterminal, ventral.

HABITAT — Pulmão de *Rana palmipes* e intestino delgado, raramente estômago, de: *Bufo marinus* (L.), *Leptodactylus ocellatus* (L.) e *Leptodactylus caliginosus* (Girard).

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA — Venezuela (Caracas), Brasil (S. Paulo e Salobra, Estado de Mato Grosso), Uruguái (Montevidéu) e Argentina (Província de Córdoba).

Desta espécie reestudamos o material da coleção do prof. A. Lutz, representado por 5 exemplares, em 2 lâminas, sendo um dêles partido. A primeira lâmina, contendo 2 especimens, encerra o exemplar representado por Lutz em 1928.

Estudamos tambem um único especimem existente na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, colecionado por F. J. M. Salles em intestino de *Bufo marinus* proveniente de S. Paulo, exemplar êste já determinado por Travassos.

Examinamos ainda copioso material coletado pela Comissão Científica do Instituto Oswaldo Cruz no Estado de Mato Grosso, em Outubro de 1938, e numerosos exemplares colecionados em rãs provenientes do Uruguái.

Esta espécie foi figurada e denominada por Lutz de *Haplometra palmipedis*, proveniente de pulmão de *Rana palmipes*, em 1928. Travassos, em 1930, após o exame dos tipos, transfere-a para o ge-

nero *Glypthelmins*, considerando a localização pulmonar como acidental.

Savazzini, em 1930, em sua tese de professorado, já por nós criticada, publica a descrição de um novo trematódeo parasito de *L. ocellatus*, proveniente da Província de Córdoba (Argentina), ao qual dá o nome de *Metorchis leptodactylus*. Julgamos ser a espécie de Savazzini idêntica à de Lutz. A descrição da autora argentina, acompanhada de uma fotografia, é a seguinte:

"Cuerpo oval, de extremidades obtusas, de 5 a 7 mm. de largo por "1,8 mm. de ancho máximo, color rosado pálido, cuerpo cubierto por "una cutícula delgada provista de escamitas de 20 μ por 6 μ, ventosa "bucal circular de 600 μ de diámetro, ventosa ventral de 300 μ de diá-"metro, diferencia notable entre las dos ventosas.

"Observándola en posición ventral se halla las ventosas, por delante "de la ventosa ventral y junto a ella está el seno genital, especie de "cloaca donde desembocan la vulva y el cirro.

"El aparato digestivo comienza en la boca, situada en el fondo de la "ventosa bucal, a continuación está la faringe, musculosa, de 230 μ de "largo por 260 μ de ancho, en seguida se divide en dos ciegos intesti-"nales que se separan aproximándose a los bordes laterales y prolon-"gándose hasta 500 μ a 700 μ de la extremidad posterior.

"Los testículos ovales se hallan situados en la mitad anterior del "cuerpo, en posición oblicua, el ovario oval, lateral, está por debajo de "la mitad de la ventosa ventral, las tres glándulas formarian en su po-"sición los vértices de un triángulo; de cada lado de los testículos parte "un canal deferente que se une al nivel posterior de la ventosa ventral, "formando el canal eyaculador, que se dilata en el interior de la bolsa "del cirro para formar la vesícula seminal contorneada, que termina por "el cirro que desemboca en el poro genital; bolsa del cirro bien mani-"fiesta.

"El conducto vector del ovario se encuentra con los conductos vecto-"res vitelógenos, llegan a la glándula coclear, pequeña, se unen y forman "el oviducto. El útero es muy rico en circunvoluciones, que ocupan los "dos tercios del cuerpo, las ramificacionaes son gruesas y próximas. Los "vitelógenos están repartidos en dos grupos situados en los tres quintos "medios y laterales del cuerpo, entre el borde e intestino.

"Los huevos, de 30 μ por 14 μ, son de color marrón, operculados y "provistos de cáscara gruesa.

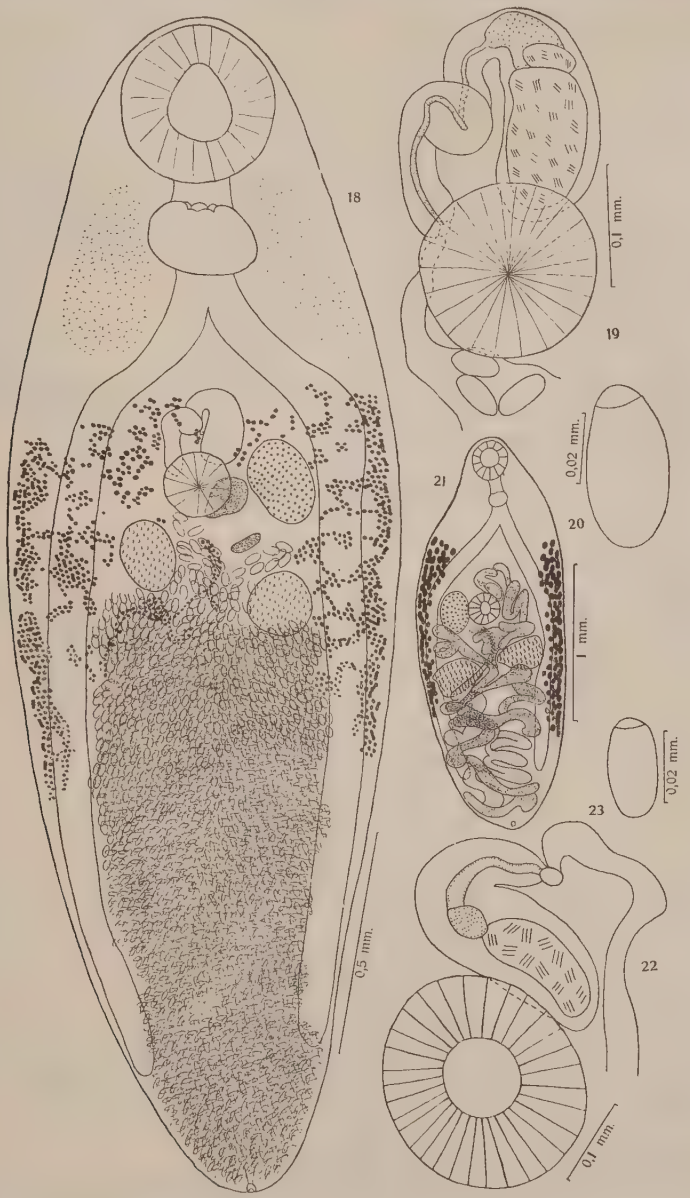
"Este trematode es parásito de estómago e intestino del *Lepto-"dactylus ocellatus*, es muy frecuente, lo hallé en un 50 % de obser-"vados."

Glypthelmins subtropica Harwood, 1932

(Figs. 18-20)

Corpo alongado, com as extremidades atenuadas, principalmente a posterior. Mede 2,48 mm. de comprimento por 0,80 mm. de maior largura. Cutícula com espinhos. Ventosa oral subterminal, grande, com 0,32 mm. de comprimento por 0,34 mm. de largura. Acetábulo menor que a ventosa oral, préequatorial, com 0,14 mm. de diâmetro, situada a 0,78 mm. da ventosa oral. A relação entre as ventosas é de 5:12 aproximadamente. Faringe bem desenvolvido, com 0,16 mm. de comprimento por 0,23 mm. de largura. Glândulas faringeanas presentes. Esô-

fago curto. Cecos mais ou menos largos, dirigidos para trás, terminando a uma certa distância da extremidade posterior do corpo. Poro genital submediano, na



Glypthelmins subtropica Harwood, 1932 — Fig. 18 — Aspecto total, vista ventral. Original; fig. 19 — Região da bolsa do cirro. Original; fig 20 — Ovo. Original. *Glypthelmins simulans* n. sp. — Fig. 21 — Aspecto total, vista ventral; fig. 22 — Região da bolsa do cirro; fig. 23 — Ovo.

região acetabular. Bolsa do cirro quasi totalmente preacetabular, contendo cirro, próstata e vesícula seminal mais ou menos globosa. Testículos arredondados, postacetabulares, postovarianos, com campos afastados e zonas parcialmente superpostas. O testículo anterior mede 0,15 mm. de comprimento por 0,13 mm. de largura; o posterior tem 0,14 mm. por 0,12 mm. Ovário pretesticular, mais ou menos arredondado, situado no campo do testículo posterior e na zona acetabular, com 0,17 mm. de comprimento por 0,16 mm. de largura. Espermateca bem desenvolvida, situada na zona ovariana e em parte na área acetabular, medindo 0,087 mm. de diâmetro. Glândula de Mehlis situada abaixo da espermateca, bastante nítida. Vitelinos constituidos por folículos muito pequenos, que se iniciam ao nivel da bolsa do cirro, terminando a 0,84 mm. da extremidade posterior do corpo, ocupando as áreas extracecais, cecais e intracecais. Útero ocupando a região posterior do corpo, contendo ovos amarelados, operculados, de casca espessa, que medem 0,046 mm. de comprimento por 0,021 mm. de largura. Poro excretor terminal.

HABITAT — Intestino delgado de *Rana pipiens*.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA — U.S.A.

Examinamos um só exemplar desta espécie. Chamamos a atenção para o engano existente nas dimensões dos testículos e do ovário, encontrado na descrição original.

Glypthelmins simulans n. sp.

(Figs. 21-23)

Corpo fracamente alongado, com a extremidade anterior atenuada, medindo 2,51 mm. de comprimento por 0,97 mm. de maior largura. Cutícula espinhosa. Ventosa oral subterminal, com 0,25 mm. de diâmetro. Acetábulo levemente menor que a ventosa oral, com 0,22 mm. de diâmetro. Faringe pequeno, com 0,12 mm. de comprimento por 0,15 mm. de largura. Esôfago curto. Cecos longos, mais ou menos delgados, terminando a 0,30 mm. da extremidade posterior do corpo. Poro genital preacetabular, mais ou menos mediano, situado a 0,17 mm. da borda anterior do acetábulo. Bolsa do cirro pequena, com 0,36 mm. de comprimento por 0,10 mm. de largura, contendo cirro, próstata e vesícula seminal globosa. Testículos postacetabulares, postovarianos, subtriangulares, com campos fracamente afastados e zonas coincidindo em grande parte. O testículo anterior mede 0,20 mm. de comprimento por 0,30 mm. de largura; o posterior tem 0,25 mm. por 0,33 mm. Ovário mais ou menos arredondado, pretesticular, situado na zona acetabular, com 0,28 mm. de comprimento por 0,18 mm. de largura. Espermateca presente, porém mal definida, situada no fim da zona ovariana. Glândula de Mehlis na região da espermateca, pouco nítida. Vitelinos constituidos por folículos bem desenvolvidos, mais ou menos confluentes, extendendo-se da região postbifurcal até 0,67 mm. da extremidade posterior do corpo, aproximadamente. Útero constituido por um ramo descendente que vem da região do ovário até a extremidade posterior do corpo e outro ascendente que vai daí até ao poro genital. Ovos amarelados, operculados, com 0,029 mm. de comprimento por 0,013 mm. de largura. Poro excretor quasi terminal, ventral.

HABITAT — Estômago, intestino delgado e reto de *Leptodactylus ocellatus* (L.).

PROVENIÊNCIA — Montevidéu, Uruguái.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Desta espécie examinamos 5 exemplares, dos quais 3 rompidos e 2 integros. Medimos e figuramos um exemplar. E' ela muito próxima

de *G. linguatula* (Rud., 1819), da qual, entretanto, se distingue facilmente pela relação existente entre o acetábulo e a bolsa do cirro.

Glypthelmins proximus n. sp. — Figs. 24 a 28 — Aspecto total, vista ventral; fig. 29 — Região da bolsa do cirro; fig. 30 — Ovo.

Glypthelmins proximus n. sp.

(Figs. 24-30)

Corpo mais ou menos alongado, com extremidades fracamente atenuadas, medindo 2,68 a 4,22 mm. de comprimento por 0,74 a 1,0 mm. de maior largura. Cutícula espinhosa. Ventosa ôral bem desenvolvida, subterminal, com 0,28 a 0,36 mm. de comprimento por 0,31 a 0,45 mm. largura. Acetábulo menor que a ventosa oral, préequatorial, com 0,17 a 0,25 mm. de comprimento por 0,17 a 0,22 mm. de largura. Faringe presente, com 0,13 a 0,25 mm. de comprimento por 0,17 a 0,25 mm. de largura. Esôfago mais ou menos desenvolvido. Cecos longos, terminando a 0,12 a 0,20 mm. da extremidade posterior do corpo. Poro genital préacetabular, submediano, situado a 0,08 a 0,12 mm. da borda anterior do acetábulo. Bolsa do cirro situada ao lado do acetábulo, com 0,41 a 0,50 mm.

de comprimento por 0,08 a 0,10 mm. de largura, contendo cirro, próstata e vesícula seminal bem desenvolvida, globosa. Testículos postacetabulares, postovarianos, com campos coincidindo parcialmente ou em contato e zonas em parte superpostas. O testículo anterior mede 0,28 a 0,31 mm. de comprimento por 0,23 a 0,30 mm. de largura; o posterior tem 0,30 a 0,35 mm. por 0,27 a 0,31 mm. Ovário situado no campo do testículo posterior e geralmente com zona parcialmente coincidindo com a do acetábulo, medindo 0,18 a 0,25 mm. de comprimento por 0,18 a 0,27 mm. de largura. Espermateca pequena, situada na região do ovário, geralmente logo abaixo dele, medindo 0,11 a 0,13 mm. de comprimento por 0,10 a 0,13 mm. de largura. Glândula de Mehlis situada na região da espermateca. Vitelinos constituidos por folículos relativamente pequenos, que se extendem da região da bolsa do cirro até 0,60 a 1,27 mm. da extremidade posterior do corpo, ocupando as áreas extracecais e cecais. Útero constituido por um ramo descendente e outro ascendente, ambos formando alças transversais e contendo ovos amarelados, operculados, que medem 0,042 mm. de comprimento por 0,013 mm. de largura. Poro excretor quasi terminal, ventral.

HABITAT — Intestino delgado, raramente estômago, de *Leptodactylus ocellatus* (L.).

PROVENIÊNCIA — Montevidéu, Uruguái.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Examinamos numerosos exemplares desta espécie. Aproxima-se ela de *G. shastai* Ingles, 1936, da qual, entretanto, se distingue pela bolsa do cirro e pelos vitelinos. O aspeto de seus ovos lembra os de *G. repandum* (Rud., 1819), da qual facilmente se diferencia pela disposição dos folículos vitelínicos.

ABSTRACT

The author describes *Plagiorchis lenti, Glypthelmins simulans* and *Glypthelmins proximus,* new trematode-species from uruguayan frogs, and redescribes *Glypthelmins subtropica* Harwood, 1932, and *Glypthelmins palmipedis* (Lutz, 1928). *Metorchis leptodactylus* Savazzini, 1930 is considered as a synonym of *G. palmipedis* (Lutz, 1928).

BIBLIOGRAFIA

ABDEL, AZIM, M., 1935, On the life history of *Lepoderma ramlianum* Looss, 1896, and its development from a xiphidiocercaria. *Parasit.,* 21 (5): 365-368, figs. 1-8.

CABALLERO, E., 1938, Revision y clave de las especies del genero *Glypthelmins. An. Inst. Biol.,* México, 9 (1-2): 121-149, figs 1-11.

DOLLFUS, R. PH., 1932, Sur un *Lepoderma* de batraciens anoures, de l'Ile Maurice. *Ann. Parasit.,* 10 (6): 509-513, figs. 1-2.

HARWOOD, P. D., 1932, Helminths parasitic in the Amphibia and Reptilia of Houston, Texas and vicinity. *Proc. U. S. Nat. Mus.,* 81, art. 17: 1-71, figs.

LOOSS, A., 1896. Recherches sur la faune parasitaire de l'Égypte. Première partie. *Mém. de l'Institt. Egypt., Le Caire,* 3 (1): 1-252, pls. 1-16, figs. 1-193.

LUTZ, A., 1928. Estudios sobre trematodes observados en Venezuela, *in* Estudios de Zoologia y Parasitologia Venezolanas, pp. 101-125, ests. 24-26.

MEHRA, H. R., 1937. Certain new and already known distomes of the family *Lepodermatidae* Odhner (Trematoda), with a discussion on the classification of the family. *Z. Parasitenk.,* 9 (4): 429-469, figs. 1-12.

OLSEN, O. W., 1937. A systematic study of the trematode subfamily *Plagiorchiinae* Pratt, 1902. *Trans. Amer. Micr. Soc.,* 56 (3): 311-339, pls. 1-5, figs. 1-80.

SAVAZZINI, L. A., 1930. Contribución el estudio de parásitos de los aparatos circulatorio y digestivo de nuestro *Leptodactylus ocellatus.* Nuevas especies de nematodes, cestodes y trematodes. Tesis de la Esc. de Farm. de la Univ. del Litoral, 43 pp., figs. B. Aires.

TRAVASSOS, L., 1924. Contribuições para o conhecimento dos helmintos dos batraquios do Brasil. I. Trematodeos intestinais. *Sc. Med.,* Rio de Janeiro, 2 (11): 618-628, figs. 1-9.

TRAVASSOS, L., 1926. Trematodeos novos. V., *Bol. Biol.,* 1: 16-20, figs. 1-12.

TRAVASSOS, L., 1930. Pesquisas helmintologicas realizadas em Hamburgo. I. Genero *Haplometra* Looss, 1899 (*Trematoda: Plagiorchidae*). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 23 (4): 163-168, ests. 27-37, figs. 1-30.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 41-46
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

"LATROCIMEX SPECTANS" N. GEN., N. SP., PARASITO DE MORCEGOS NO BRASIL (Hemiptera, Cimicidæ) [1]

HERMAN LENT
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 4 figuras no texto)

Entre os *Cimicidae* são considerados, no momento, 12 gêneros diferentes distribuidos em duas subfamílias, *Cimicinae* e *Haematosiphoninae,* esta última somente com o gênero *Haematosiphon*.

No Brasil existem representantes dos gêneros *Cimex* (4 espécies diferentes) e *Ornithocoris* (a espécie tipo), uma única considerada parasita habitual de morcegos nos Estados de Pernambuco e Pará.

Em 1936, M. Cavalcanti Proença colecionou em um buraco de tronco de árvore caído, às margens do rio S. Francisco no Estado de Mato Grosso, que servia de ninho a morcegos ictiófagos da espécie *Noctilio leporinus,* 4 ♂♂, 1 ♀ e várias formas jovens de um percevejo muito característico que consideramos pertencente a um gênero ainda não conhecido e que aqui descrevemos.

Latrocimex n. gen.

Diagnose — *Cimicinae* revestido de cerdas de um só tipo, variando somente no tamanho e robustez, largas na base e afiladas para a extremidade livre, na maior parte setiformes, algumas se alongando mais e tornando-se flageliformes. Cabeça trapezoidal. Olhos pequenos. Pronoto quadrangular, com ângulos posteriores e anteriores arredondados. Escutelo triangular. Hemi-élitros membranosos e com margens laterais livres refletidas para baixo, revestidos de cerdas curtas e possuindo 3 ou 4 cerdas aguçadas fortes nos ângulos anteriores. Patas fortes, os fêmures bastante dilatados. Macho com orgão copulador forte e comprido. Fêmea com orgão de Ribaga e Berlese entre os 4.º e 5.º segmentos abdominais e um curioso ctenídio na face ventral do último segmento abdominal, em torno do orifício de oviposição, isto é, 6 pares de fortes ganchos achatados, de ponta romba, e, externamente 2 pares de cerdas longas, flageliformes e aguçadas.

Espécie tipo — *Latrocimex spectans* n. sp.

1 Recebido para publicação a 14 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

O gênero se diferencia de todos os outros até agora conhecidos pelos curiosos caracteres acima apontados, que não existem em nenhum outro; aproxima-se de *Loxaspis* Rothschild, 1912 pela forma do pronoto.

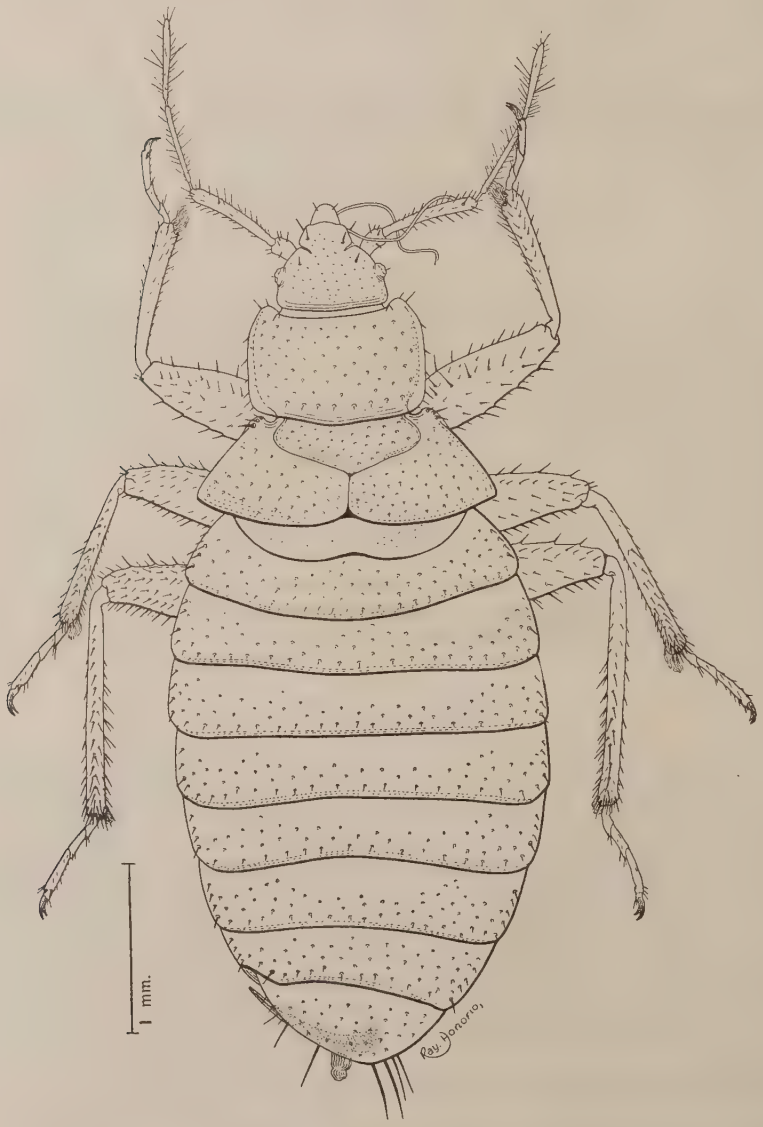


Fig. 1 — *Latrocimex spectans* n. gen., n. sp. — Aspeto total, vista dorsal, do ♂.

Latrocimex spectans n. sp.

Comprimento total — ♂♂ 5,1 a 6,25 mm.; ♀ 4,72 mm. Largura máxima (depois de montados) — ♂♂ 2,250 a 2,375 mm.; ♀ 2,22 mm.

Fig. 2 — *Latrocimex spectans* n. gen., n. sp. — Aspeto total, vista ventral, do ♂.

Cimicídeo fortemente achatado no sentido dorso-ventral, em geral pouco piloso em relação aos demais representantes da família, com pernas fortes, prin-

cipalmente os fêmures que são muito robustos, nestas e no abdomen existindo as cerdas mais fortes de todo o corpo. Êste cimicídeo possui cerdas de um só tipo, variando somente no tamanho e robustez; são cerdas largas na base e afiladas para a extremidade livre, na maior parte setiformes, algumas se alongam mais e tornam-se flageliformes.

Cabeça de forma trapezoidal, medindo de comprimento (sem o labro) 0,550 a 0,625 mm. por 0,650 a 0,675 mm. de largura máxima (abaixo dos olhos) nos ♂♂ e 0,498 mm. por 0,631 mm. na ♀, com cerdas curtas, muito pequenas, esparsas e pouco numerosas, implantadas em pontuações; de cada lado da cabeça, ao nivel do ponto de implantação do 1.º artículo antenal, existe uma cerda maior aguçada. *Tylus* de aspecto cordiforme, separado da cabeça propriamente dita por uma sutura; sobre o *tylus* existem, esparsas, as mesmas pequeninas cerdas que se implantam sobre a cabeça e, além delas, 4 outras cerdas maiores aguçadas, duas de cada lado, uma na região mediana, mais próxima do bordo lateral e outra anterior e sobre o bordo lateral do *tylus* (fig. 1). Olhos facetados, pequenos, pouco salientes, recobertos de cerdas aguçadas pouco desenvolvidas, com 0,036 mm. de largura e 0,108 mm. de altura na base. Ocelos ausentes. Antenas tetra-articuladas, implantadas em tubérculo anterífero pouco distinto, de modo a se ter a impressão de que o 1.º artículo antenal está encaixado na cabeça entre as faces ventral e dorsal; o 1.º artículo antenal é forte, bem largo, quasi com o dobro do diâmetro do 2.º artículo e com 0,180 a 0,204 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,150 mm. na ♀ e revestido de cerdas esparsas de tamanho variavel implantadas em sua metade apical; 2.º artículo antenal com 0,600 a 0,636 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,515 mm. na ♀, quasi com a metade do diâmetro do 1.º, mas ainda bem forte, e revestido de cerdas aguçadas de várias dimensões, mais numerosas e fortes na extremidade apical; 3.º artículo antenal menos quitinizado, delgado, com 0,528 a 0,564 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,465 mm. na ♀, revestido uniformemente de cerdas mais finas, aciculares e longas; 4.º artículo tão delgado quanto o 3.º, com 0,552 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,531 mm. na ♀, revestido do mesmo tipo de cerdas do artículo anterior, com a metade apical dilatada em forma de clava e com cerdas menores mais abundantes. (Todas as medidas dos artículos antenais foram tomadas sem as articulações).

Rostro forte, reto, triarticulado, inferiormente situado quando em repouso, cujo ápice ultrapassa o nivel da inserção do 1.º par de patas, é revestido de cerdas de várias dimensões, mais finas e delgadas para a extremidade apical. Os artículos do rostro medem de comprimento, 0,24 mm. nos ♂♂ e 0,208 mm. na ♀ para o 1.º; 0,24 a 0,264 mm. nos ♂♂ e 0,208 mm. na ♀ para o 2.º; e 0,384 a 0,456 mm. nos ♂♂ e 0,398 mm. na ♀ para o 3.º. O labro, nas preparações montadas em bálsamo do Canadá, geralmente fica extendido para diante do corpo, tem a extremidade livre arredondada, é revestido de cerdas pequenas e de duas outras maiores, uma de cada lado, dirigidas para diante como as correspondentes da cabeça.

Pronoto quadrangular (fig. 1), com os ângulos posteriores arredondados e os anteriores tambem, porém salientes, revestido de pequeninas cerdas aguçadas pouco numerosas e esparsas, que frequentemente caem, em um ou outro ponto de sua superfície encontrando-se cerdas maiores que são mais constantes nos ângulos anteriores e posteriores, onde se apresentam habitualmente em número de duas, e nos bordos laterais. O pronoto mede 0,684 a 0,725 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,614 mm. na ♀ por 1,075 a 1.092 mm. de largura máxima nos ♂♂ e 1,046 mm. na ♀; no bordo anterior perto dos ângulos existe um ponto onde a cutícula se dobra de modo a formar um encaixe, ou uma articulação, para a cabeça.

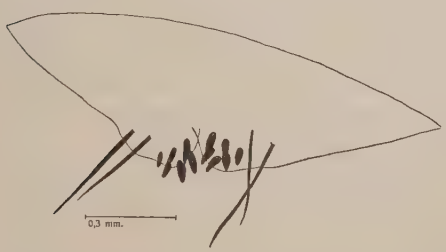
Escutelo de forma aproximadamente triangular, com os ângulos laterais arredondados e o posterior afilado; tambem é revestido de curtas cerdas finas,

pouco numerosas e esparsas, que, como todas as outras dêste inseto, se implantam sobre uma pontuação grande. Mede 0,360 a 0,384 mm. de altura nos ♂♂ e 0,384 mm. na ♀ por 0,840 a 0,960 mm. de largura maior nos ♂♂ e 0,797 mm. na ♀.

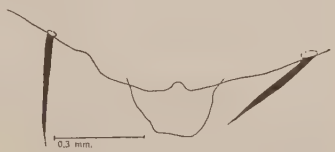
Hemi-élitros de aspeto muito caraterístico (fig. 2), porque são membranosos e possuem as margens laterais livres refletidas para baixo; os élitros acompanham os bordos livres do escutelo e se prolongam para diante em ângulo acotovelado onde se implantam 3 ou 4 cerdas aguçadas fortes. São, tambem, revestidos por cerdas curtas esparsas implantadas em pontuações, como nas demais regiões do corpo, e se unem na linha mediana abaixo do ápice do escutelo; sobre o bordo livre dos élitros, que está refletido para baixo, as cerdas são maiores, cada élitro apresentando, na sua região posterior, uma dobra transversal que se atenua para as margens livres. As dimensões dos élitros são as seguintes: no bordo externo, 0,684 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,614 mm. na ♀; no bordo interno, 0,240 a 0,264 mm. de comprimento nos ♂♂ e 0,232 mm. na ♀; e 0,864 a 0,936 mm. de largura máxima nos ♂♂ e 0,896 mm. na ♀.

Patas fortes, constituidas pelos segmentos habituais: coxa, trocanter, femur, tíbia, tarso e unhas, todos êles com diâmetro mais ou menos igual em cada par de patas; no que se refere ao comprimento, o 1.º par de patas é o menor de todos, o 2.º é levemente maior que êle, e o 3.º é ainda maior. Fêmures fortes e dilatados. Tíbias com o mesmo comprimento do femur nos dois primeiros pares, maiores, entretanto, no 3.º; não existe pseudo-articulação tibial, mas revela-se a presença do tufo apical de cerdas. As patas são revestidas uniformemente de cerdas aguçadas de varios tamanhos, no femur e na tíbia existindo as maiores cerdas de todo o inseto; no ápice de cada tíbia essas cerdas se concentram formando um pente. Os tarsos são mais longos no 3.º par e se equivalem nos dois primeiros; o 1.º artículo tarsal é sempre o menor e o 3.º o maior, isto é, igual à soma dos outros dois. (fig. 2).

Abdomem ovoide, com 8 segmentos visiveis, além daqueles diferenciados em orgãos genitais. Urosternitos recobertos de cerdas aguçadas (fig. 2) de vários tamanhos, com a região anterior glabra, para facilitar a articulação dos segmentos abdominais; as cerdas são bem pequenas, em geral, e pouco numerosas entre as placas tergais, são maiores sobre os bordos laterais, e ainda maiores, bem longas, numa curta faixa, transversal, em cada tergito. Os urotergitos são revestidos de cerdas muito menores e em menor número; a região glabra é mais extensa, tambem. Sobre os 2.º a 5.º urosternitos, medianamente, existe uma zona despigmentada, menos quitinizada e quasi desprovida de cerdas. Estigmas arredondados, salientes, laterais, no meio de cada segmento e a curta distância da margem lateral do corpo.



3



4

Latrocimex spectans n. gen., n. sp. — Fig. 3 — Placa ventral do último segmento abdominal da ♀. Fig. 4 — Placa dorsal do último segmento abdominal da ♀.

Segmento genital macho assimétrico (fig. 2), revestido de cerdinhas muito pouco numerosas dorsalmente situadas; ventralmente, existe um grupo de 4 a

6 cerdas fortes e longas, acima do orifício peniano e no limite posterior outras tantas cerdas de dimensões e aspeto iguais. Orgão copulador masculino forte, robusto e comprido, com 0,85 a 0,90 mm. de comprimento, vindo ao exterior através o orifício genital que é ventral. Abertura anal dorsal.

Na fêmea, além do orgão de Ribaga e Berlese, que é lateral e está situado entre os segmentos 4.º e 5.º, o segmento terminal é muito interessante pois se apresenta na face ventral (fig. 3) com um ctenídio de ganchos de ponta romba e achatados dispostos simetricamente, 6 de cada lado do orifício de postura; para fora destes encontram-se, de cada lado, 2 cerdas longas, afiladas, flageliformes. A placa dorsal (fig. 4) do último segmento abdominal possui 1 par de cerdas dêste último tipo, uma de cada lado, além do orifício anal.

Proveniência — Fazenda Limoeiro, Rio S. Francisco, Estado de Mato Grosso (Brasil). Em ninho de *Noctilio leporinus*, M. Cavalcanti Proença leg., 18-VIII-1936.

Holotipo macho, alotipo fêmea e 4 paratipos machos, na coleção do Instituto Oswaldo Cruz.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 47-55
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

DE UM ESTRANHO PARASITO DO CÃO (Insecta, Mallophaga) [1]

FABIO LEONI WERNECK
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 2 figuras no texto)

Via de regra o aspeto geral dum malófago fornece indicações mais ou menos precisas sobre o mamífero donde proveiu, pois a cada grupo natural destes hospedadores corresponde uma feição própria ao parasito. Pode-se, deste modo, amiude e com grande segurança, diante de um parasito desconhecido prever a ordem, a família e às vezes mesmo o gênero a que pertence seu hospedador; e si o parasito já tiver sido objeto de estudo, seus caracteres específicos indicarão frequentemente não só o gênero, mas a espécie do portador. É, com efeito, impossivel confundir os malófagos que vivem sobre roedores, marsupiais, carnívoros, ungulados e primatas, assim como distinguem-se bem os que infestam as diversas famílias de uma mesma ordem: coendídeos ou geomiídeos; mustelídeos, canídeos ou felídeos; bovídeos, cervídeos ou antilopideos. Como um exemplo de parasitos cujo aspeto revela o gênero do hospedador, citamos os peculiares aos *Ctenomys*, roedores octodontideos vulgarmente conhecidos pela denominação de tuco-tucos.

A estreita relação entre malófagos e seus hospedadores mamíferos, acima indicada, poderia levar a crêr que a distribuição geográfica dos múltiplos gêneros de *Mallophaga* estivesse condicionada exclusivamente à de seus portadores. Isto porém só é exato quando os gêneros em questão pertencem a famílias cosmopolitas. Outras ha, entretanto, restritas a determinadas regiões geográficas.

Tomadas em consideração estas duas circunstâncias, é lícito prever com certeza quasi absoluta analogias e dados relativos a espécies desconhecidas. Seria razoavel admitir, por exemplo, que um malófago de lontra asiática se assemelhasse muito mais ao de nossa lontra que qualquer outro malófago de hospedador sul-americano; como se poderia negar a presença em animal africano de espécie da família *Gyropidae*, visto ser esta particular à região neotrópica.

---

1 Recebido para publicação a 17 de Fevereiro de 1941.

Exceções aos conhecimentos que conduzem a previsões desta natureza se revestem, evidentemente, de consideravel interesse, indicando relações filogenéticas insuspeitadas entre hospedadores ou alterações profundas na biologia do parasito. Parece-nos que a adaptação a novo hospedador, bem diferente do primitivo, é suscetivel de fornecer dados sobre as condições que regem a especificidade do parasito, pela pesquiza de traços comuns entre os portadores. Se assim fôr, tais casos excepcionais proporcionariam meios valiosos para elucidação dum dos problemas de maior vulto da parasitologia geral.

Tudo quanto acabamos de referir demonstra quão inesperada e interessante é a ocurrência no cão doméstico, e pois disseminado hoje em todo o mundo, dum parasito pertencente a uma família de malófagos exclusiva dos marsupiais australianos. Além da distância que separa na escala dos mamíferos os canídeos dos marsupiais, ha as diferenças acentuadas de hábitos: os primeiros carnívoros, os segundos herbívoros (cangurús).

Seu conhecimento é devido ao atual diretor do Museu Zoológico da Universidade de Berlim, Dr. Guenther Enderlein, que o descreveu em 1909 com o nome de *Menopon spiniger,* servindo-se de especimens colhidos em Sekgoma, em Maio de 1904, num cão de propriedade de um Betschuano do deserto de Kalahari, pela expedição sulafricana do Dr. Leonhard Schultze, então professor da Universidade de Iena. Enderlein porém não se apercebeu da grande semelhança existente entre o parasito que acabava de encontrar e dois outros de marsupiais australianos anteriormente descritos, pois, em caso contrário, teria sem dúvida aludido a tão estranho fato. Descreveu-o como si fôra uma nova espécie sem relação alguma com outras já conhecidas, não registrando um só carater anatômico suscetivel de distinguí-la das demais; apenas estranhou sua presença no cão, que julgou contaminado por algum animal de caça. Segundo Neumann, Enderlein teria atribuido a referida contaminação a um marsupial. Isto resulta de evidente confusão entre a expressão usada por Enderlein: "Beutetier" — animal de presa, caça — e "Beuteltier", marsupial. Seria além disto inadmissivel supôr que êste autor contasse com a presença de marsupiais no Kalahari e o fato de não ter adotado o gênero *Heterodoxus* constitui mais um indício de seu desconhecimento dos trabalhos já publicados sobre as espécies afins, que parasitam marsupiais.

O engano de Neumann decorre, além da confusão ocasionada pela semelhança das palavras alemãs, da presunção de que Enderlein conhecesse as espécies australianas a que nos referimos. Realmente, em 1880 E. Piaget descrevera a mais antiga, de muitos exemplares colhidos no jardim zoológico de Rotterdam sobre um *Halmaturus giganteus* (cujo nome correto deve ser *Macropus major* Shaw) e em 1902 S. A. Le Souëf e H. Bullen se ocuparam de uma outra espécie encontrada em cangurús de Victoria e Queensland, na Austrália. A primeira teve por nome *Menopon longitarsus* e a segunda *Heterodoxus macropus,* com a creação de um novo gênero. Entretanto descrições e desenhos

de todos êstes parasitos, inclusive do de ENDERLEIN, não permitem distinguí-los por não ter sido estudado o aparelho copulador masculino, onde residem os caracteres específicos.

Em 1912, o Prof. L. G. NEUMANN, da Escola Veterinária de Toulouse, ocupando-se do gênero *Menopon* Nitzsch, criou um novo subgênero — *Menacanthus* — no qual incluiu *Menopon longitarsus* Piaget e *Menopon spiniger* Enderlein, deixando de fazer o mesmo com a espécie de LE SOUËF & BULLEN, por desconhecer provavelmente o trabalho dêstes autores, uma vez que não se referiu ao gênero *Heterodoxus*. NEUMANN obteve melhor material de estudo que qualquer de seus antecessores, pois foi o primeiro especialista a dispôr para comparação direta de especimens provenientes de cangurús e do cão doméstico. O Prof. TROUESSART cedeu-lhe oito malófagos provenientes dum cangurú do Jardim das Plantas de Paris e na coleção HYSLOP (presentemente no gabinete de parasitologia da Faculdade de Medicina de Paris) encontrou duas preparações com parasitos colhidos num cangurú não determinado. Obteve, ainda, cotipos de *Menopon spiniger;* preparação com material colhido num cão da Martinica e cedida pelo Prof. RAILLIET da Escola de Alfort; especimens pertencentes à coleção N. C. ROTHSCHILD, emprestados pelo Prof. NUTTALL da Universidade de Cambridge e provenientes dum cão de Yokohama; e exemplares colhidos por C. W. HARWARD em cão de Lourenço Marques, Moçambique. As repetidas verificações da presença dêsse malófago sobre o cão, levaram NEUMANN a considerá-lo como parasito próprio a êste hospedador, admitindo *Menopon longitarsus* e *Menopon spiniger* como espécies distintas. Não se referiu, todavia, à grande semelhança existente entre ambas nem a qualquer particularidade que as caraterizasse; tratou-as como espécies que nada tivessem de comum. E' verdade que nos desenhos publicados nota-se acentuada divergência na forma das respectivas cabeças, o que se deve atribuir a imperfeição dos mesmos ou a deformações ocasionadas pela montagem dos especimens.

Alguns meses mais tarde, em Outubro do mesmo ano, JOHN HOWARD PAINE, da Universidade de Stanford, publicou tambem um trabalho sobre parasitos dêste grupo. PAINE dispunha de exemplares de *Heterodoxus macropus* enviados a seu laboratório por LE SOUËF e de especimens colhidos num cão doméstico da Califórnia que o Prof. W. B. HERMS, da universidade dêste estado, lhe remetera. Comparando uns e outros encontrou supostas diferenças na forma do abdomen do macho e no comprimento total do corpo, notando entretanto grande semelhança entre êles:

> "One can scarcely see how two such closely related forms can come from hosts so widely separated, both geographically and systematically unless by some process of "straggling". This species generally resembles *macropus*, but is much smaller and the abdomen of the male is truncate."

Não lhe tendo sido possivel encontrar a menor diferença entre seus exemplares de *macropus* e a descrição de *spiniger* feita por ENDERLEIN,

decidiu-se a considerar o último, isto é o parasito do cão do Kalahari, sinônimo de *macropus* dos cangurús e a admitir como nova espécie a proveniente do cão da Califórnia, com o nome de *Heterodoxus armiferus*. Não lhe seria possivel optar por solução menos sensata e verosimil, e só o fez na suposição de que os cangurús tivessem adquirido os malófagos do cão:

> "Dr. G. Enderlein has described a parasite from a South African dog under the name *Menopon spiniger*. His description and figure, however, both agree so closely with our specimens of *H. macropus* that is impossible to separate the two species. Owing to priority therefore, *M. spiniger* becomes a synonym. Thus we have both species of the genus *Heterodoxus* occurring on the dog, which animal is probably its characteristic host."

E' de crer que Paine desconhecesse o trabalho de Neumann publicado meses antes e é de lastimar que não tenha tomado em consideração o de Piaget, relativo a *longitarsus*.

Um ano mais tarde Bruce F. Cummings, do Museu Britânico, estudou cotipos de *macropus* cedidos a êste museu por Le Souëf e achou que correspondiam integralmente às descrições e desenhos publicados de *longitarsus*, opinando que *macropus* devia ser considerado sinônimo. Além disto Cummings declarou haver nas coleções do Museu Britânico especimens idênticos provenientes de *Corone australis* de Vitória, de cangurú do norte de Queensland, dum cão de Borneo e dum chacal da Somália, provando assim a possibilidade do parasito se encontrar sobre muitos hospedadores e de várias partes do mundo.

Em 1915, o então professor de entomologia na Universidade de Stanford, Vernon Lyman Kellogg em colaboração com Gordon Floyd Ferris, atualmente professor na mesma universidade, examinaram parasitos colhidos num cão de São Francisco da Califórnia e os consideraram pertencentes à espécie de Piaget, que supunham pudesse existir nêste animal:

> "However, it is extremely probable that kangaroos are it normal host and the other records are due to straggling from kangaroos in museuns and zoological gardens, for it certainly is not of common occurrence upon dogs."

Launcelot Harrison, especialista de renome, e T. Harvey Johnston publicaram em 1916 o primeiro trabalho conhecido sobre as espécies habituais aos marsupiais da Austrália, e consideraram idênticos todos os especimens do gênero *Heterodoxus* examinados, incluindo parasitos colhidos em cães e cangurús, e os identificaram a *Heterodoxus longitarsus* (Piaget). A respeito dos primeiros foi dito pelos referidos autores:

> "We have examined the African and Yokohama specimens from dogs, and consider them to be indubitable stragglers from Australian marsupials." e "It is undoubtedly a marsupial parasite, and all occurrences on carnivora must be ascribed to straggling."

Harrison & Johnston dispuzeram do mais abundante material do gênero *Heterodoxus* até hoje reunido, constando de especimens colhidos em *Macropus stigmaticus* (= *Thylogale stigmatica* Gould), *M. wilcoxi* (= *T. stigmatica wilcoxi* M'Coy), *M. thetidis* (= *T. thetis* Lesson), *M. walabatus* (= *Wallabia bicolor* Desmarest), *M. ruficollis* e *M. bennetti* (= *W. rufogrisea* Desmarest), *M. dorsalis* (= *W. dorsalis* Gray), *M. robustus* (= *Osphranter robustus* Gould), *M. rufus* (= *Megaleia rufa* Desmarest) e *M. giganteus* (provavelmente: *M. major* Shaw), e seu estudo deixou entrever diferenças específicas de que, aliás, não se utilizaram. A êste respeito, merecem transcrição os trechos abaixo:

> "The species presents considerable difficulty for the systematic worker, as the range of variation is very considerable. Possibly at a later date characters may be found which will justify a splitting up, but we do not feel inclined to attempt this step at present; for although forms from certain hosts seem quite distinct if examined alone, intermediate forms can be found upon others hosts, which connect them back with typical *longitarsus*."
>
> "But we would draw attention to these plates and to the male genitalia, in wich we have also observed differences, as likely to afford a solution."

Finalmente, em 1936 numa publicação sobre os malófagos dos mamíferos sulamericanos descrevemos *Heterodoxus spiniger,* atribuindo-lhe erradamente o nome de *Heterodoxus longitarsus,* de acôrdo com a opinião dominante na época, servindo-nos de muitos exemplares capturados em cães do Brasil, Argentina, Estados-Unidos e em *Oncifelis salinarum,* de Jujuy.

Resumindo o resultado dos estudos realizados até a data atual podemos dividir todos os trabalhos publicados em dois grupos: o primeiro constituido pelas antigas publicações, onde a existência de várias espécies do gênero *Heterodoxus* era admitida, embora sem nenhum fundamento; o segundo, abrangendo as mais recentes, que reduzem as espécies em questão a uma única, à qual por direito de prioridade atribuem o nome *Heterodoxus longitarsus* (Piaget). Em consequência desta última opinião, aparentemente bem documentada, admitia-se fosse o cão doméstico parasitado com frequência, e em todos os continentes, por um dos malófagos próprios aos cangurús, dos quais o teria adquirido.

Relatados em linhas gerais os conhecimentos adquiridos sobre tão singular parasito para melhor compreensão do assunto, passamos a expôr o resultado de nossas recentes observações, realizadas sobre material mais adequado que o disponivel em 1936. De fato, nos últimos quatro anos foi-nos dado reunir número bastante elevado de exemplares do gênero *Heterodoxus,* que podem ser dêste modo descriminados:

a) — Numerosos especimens colhidos em cães domésticos do Brasil, Argentina, Chile, Estados-Unidos, Uganda, Kenya, Transvaal e Austrália. Os argentinos nos foram enviados pelo Dr. S. Mazza, os norte-americanos pelo Sr. O. G.

Babcok, os africanos pelo Sr. G. H. E. Hopkins e os australianos pelo Dr. F. H. S. Roberts.

b) — Três fêmeas, dois machos e uma forma joven, provenientes de "coyote" (*Canis latrans*) de Laredo, Texas, U.S.A., capturados por H. L. Royal, em 6 e 18-VIII-1932 e cedidos pelo Sr. F. C. Bishopp (n.º 19485 e 19595) do Bureau of Entomology and Plant Quarantine de Washington.

c) — Machos, fêmeas e formas imaturas, recolhidos em *Oncifelis salinarum*, de Jujuy, Argentina, pelo Dr. Salvador Mazza, chefe da Misión de Estudios de Patológia Regional Argentina da Universidade de Buenos-Ayres.

d) — Duas lâminas com macho e fêmea, pertencentes ao Museu Britânico, rotuladas: "*Menopon longitarsus* P., Kangourou (*Halmaturus giganteus*), Piaget Collection, B. Mus. 1928-325 (além destas indicações a preparação da fêmea tinha o n.º 425 e a do macho 426). Especimens gentilmente emprestados por Miss Th. Clay, B. Sc.

e) — Duas lâminas da coleção G. B. Thompson, com macho e fêmea colhidos em "brush-tailed rock wallaby", *Petrogale penicillata* (= *Phascogale tapoatafa* Meyer), da Nova Gales do Sul.

f) — Duas lâminas da mesma coleção, com macho e fêmea colhidos em *Thylogale stigmatica* Gould, de Queensland.

g) — Um macho, enviado em álcool pelo Dr. F. H. S. Roberts, da Animal Health Station de Yeerongpilly, proveniente de "coastal wallaby", *Macropus agilis* (= *Wallabia agilis* Gould), de Queensland.

h) — Duas preparações da coleção G. B. Thompson, com indivíduos de ambos os sexos, provenientes de *Wallabia bicolor* Desmarest, de Victoria.

i) — Uma fêmea da coleção Thompson, colhida em "wallaby" não determinado da Austrália Occidental.

O exame minucioso do habitus externo dêstes parasitos, a que se limitaram os autores, exceção feita de Harrison & Johnston, não nos revelou nenhuma diferença aceitavel como carater específico, razão pela qual as várias espécies do gênero *Heterodoxus* têm sido consideradas idênticas. Entretanto, as formações quitinosas da vesícula penis nos forneceram elementos bastantes para caraterizá-las, como Harrison & Johnston entreviram.

Não é facil o estudo acurado destas estruturas, si quizermos estabelecer a forma exata e as relações entre suas partes componentes; isto porém é dispensavel ao reconhecimento das espécies. Para fins de identificação é apenas necessário uma imagem de aspeto constante, embora de dificil interpretação, onde determinadas particularidades caraterísticas possam ser observadas. São portanto indispensáveis, para determinação específica, machos em preparações favoraveis, permitindo o estudo da vesícula, de preferência em posição normal.

De acôrdo com Harrison & Johnston e com nossas próprias observações pessoais, o aspeto de tais estruturas varia com frequência quando os parasitos provêm de hospedadores diferentes, mas é absolutamente constante em material da mesma origem, como nos foi dado observar em numerosos especimens colhidos em cães. Seria, nestas condições, absurdo considerar simples variações individuais diferenças morfológicas nítidas, ainda que relativamente pequenas, não encontradas em indivíduos duma mesma comunidade e verificadas constantemente em parasitos provenientes doutros mamíferos. Tal circunstância tem evi-

dentemente maior significação e prova a existência de várias espécies no gênero *Heterodoxus,* mais ou menos semelhantes. Isto não significa, todavia, que determinada espécie não possa parasitar vários hospedadores e mesmo que, por exceção, um hospedador não apresente mais de um parasito. Embora ainda desconhecido, o número de espécies do gênero em questão não é ilimitado e estamos convencidos que todas poderão ser caraterizadas por uma ou mais particularidades nas referidas estruturas, apesar de aparentemente insignificantes.

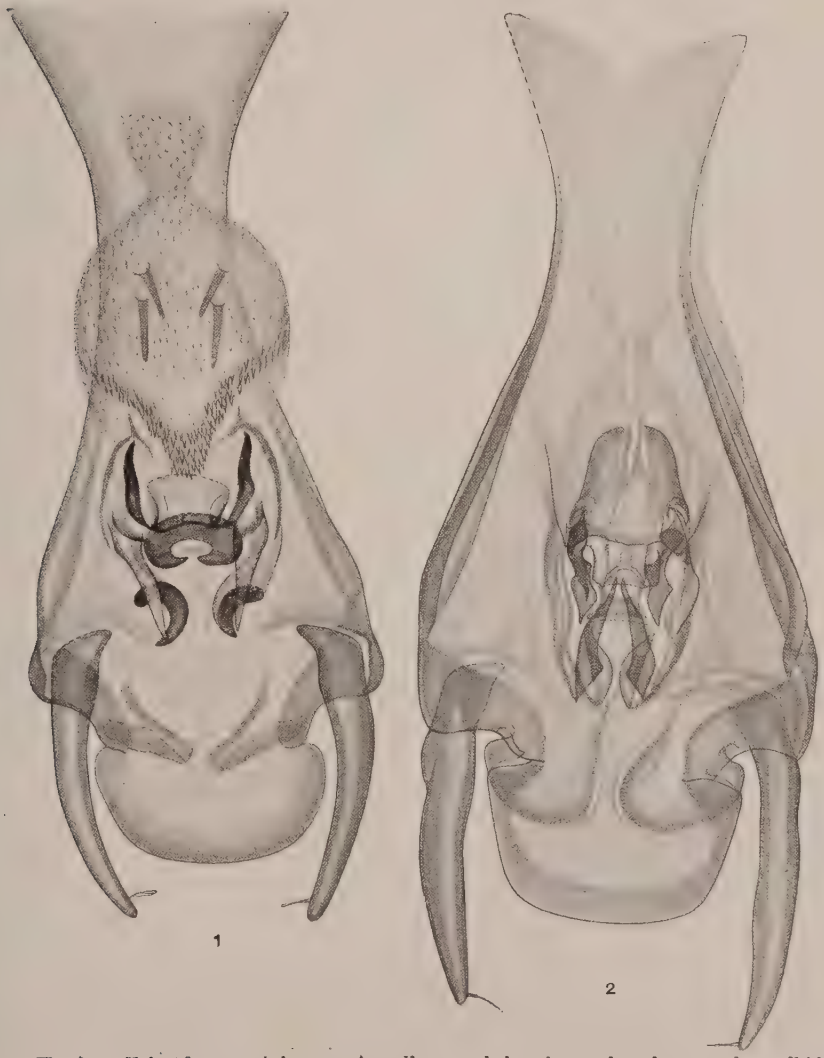


Fig. 1 — *Heterodoxus spiniger* — Aparelho copulador do macho, de exemplar colhido em cão. Fig. 2 — *Heterodoxus longitarsus* — Aparelho copulador do macho, de exemplar do lote tipo. Desenhos de Ray. Honorio.

Dentre os especimens examinados, os referidos em *a, b* e *c,* provenientes de cães de vários continentes, de "coyote" do Texas e de *Oncifelis salinarum* de Jujuy, são rigorosamente idênticos e devem ser considerados da espécie de ENDERLEIN — *Heterodoxus spiniger* — caraterizada pelo aspeto das formações quitinosas da vesícula penis representado na fig. 1. Como principais particularidades caraterísticas dêste orgão, consideramos: os dois pares de espinhos grandes, a disposição em V dos espinhos menores da base da vesícula e, sobretudo, a peça mediana em forma de crescente.

O material disponivel proveniente de cangurús não nos faculta, em rigôr, asseverar que *spiniger* não possa ser encontrado sobre estes hospedadores; para tal seria necessário um número muito maior de exames. Mas isto não nos parece provavel e achamos mais razoavel considerá-lo como parasito peculiar ao cão, embora de origem australiana e diferenciado por adaptação. E' de crêr que esta última se tenha processado por intermédio do *dingo,* como nos foi sugerido por nosso amigo G. H. E. HOPKINS, o que torna a pesquiza e estudo dos parasitos, acaso encontrados nêste animal, altamente interessante. Caso a presença de *spiniger* venha a ser verificada entre cangurús, em desacôrdo com nossa convicção, talvez seu nome legítimo seja *macropus,* mas nunca *longitarsus*.

Heterodoxus longitarsus (Piaget) é nitidamente distinto do habitual parasito do cão, tão comum em nosso país. Falta-lhe a peça mediana em crescente e os espinhos encontrados na parede da vesícula de *spiniger*. A êste respeito o confronto das figs. 1 e 2 não deixa subsistir dúvida alguma e melhor que qualquer descrição mostrará todas as diferenças existentes entre as espécies.

Os outros exemplares examinados pertencem a mais de uma espécie, mas não é conveniente descrevê-las e ainda menos dar-lhes nome, por vários motivos: primeiro porque seria necessário elucidar antes as dúvidas existentes quanto a *macropus;* segundo por não permitirem conveniente desenho da vesícula penis, torcidas e fora de posição; finalmente por terem sido, com toda a probabilidade, colhidos em animais cativos em condições de possivel contaminação, o que daria indicações falsas sobre seus verdadeiros hospedadores.

Acreditamos que sob o nome de *Heterodoxus macropus* Le Souëf & Bullen tenham descrito várias espécies porque o parasito foi atribuido a mais de um cangurú, de localidades distintas. Não sendo de esperar o reconhecimento do exemplar descrito no trabalho original, julgamos acertado considerar tipos da espécie os enviados a PAINE, redescritos com o mesmo nome. Este autor teria assim precisado, ainda que involuntariamente, o nome criado por LE SOUËF & BULLEN.

Ao terminar, cumpre-nos agradecer o inestimavel auxílio recebido de todos os que nos proporcionaram material de estudo, cujos nomes indicamos nêste trabalho.

RESUMÉ

Le genre *Heterodoxus* comprend plusieurs espèces semblables qui ne peuvent être distinguées les uns des autres que par les pièces chitineuses de la vésicule pénienne. L'étude de cet organe n'a jamais été fait d'une façon convenable, et on confondu jusqu'à présent les différentes espèces les unes avec les autres. L'examen d'un très grand nombre de spécimens pris sur le chien domestique nous a montré que les vésicules sont rigoureusement identiques lorsque les parasites proviennent du même hôte. Par contre, dans des parasites recueillis sur des hôtes différents nous avons pu constater des modifications nettes, ayant à notre avis la valeur de caractères spécifiques. L'aspect de la vésicule pénienne permet donc de reconnaître les différentes espèces du genre *Heterodoxus*, qui est d'ailleurs un genre très homogène.

Nous espérons que le dessin de la fig. 2, d'après une préparation de la collection Piaget, permettra désormais d'identifier *Heterodoxus longitarsus* que l'on croyait à tort être l'espèce couramment trouvé sur le chien. Celle-ci est en réalité *Heterodoxus spiniger*, dont les particularités caractéristiques de la vésicule pénienne sont réprésentées dans la fig. 1.

BIBLIOGRAFIA

CUMMINGS, B. F., 1913, On some nondescript anoplura and mallophaga. *Bull. ent. Res.* 4:35-45.

ENDERLEIN, G., 1909, Anopluren (Siphunculaten) und Mallophagen. *Denks. der mediz. naturw. Ges. zu Jena*, 14: 79-80, figs.

HARRISON, L. & JOHNSTON, T. H., 1916, Mallophaga from Marsupials. *Parasitology*, 3: 338-359, figs.

KELLOGG, V. L. & FERRIS, G. F., 1915, *The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals* Stanford, Ca., pags. 67.

LE SOUEF, S. A. & BULLEN, H., 1902, Description of a Mallophagous parasite from the kangaroo. *Vict. Nat.*, 18: 159.

NEUMANN, L. C., 1912, Notes sur les Mallophages. *Arch. Parasit.*, 15: 353-384, figs.

PAINE, J. H., 1912, The Mallophagan Genus Heterodoxus Le Souef and Bullen. *Ent. News*, 23: 359-362, figs.

PIAGET, E., 1880, *Les Pediculines, Leide*, pags. 504, figs.

WERNECK, F. L., 1936, Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mammiferos sul-americanos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 31: 391-589, figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 57-61
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE ALGUNS ACANTOCÉFALOS PROVENIENTES DO ESTADO DE MATO GROSSO [1]

D. A. MACHADO FILHO
Escola Nacional de Veterinaria, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 7 figuras no texto)

No presente trabalho damos a relação do material colecionado durante a excursão da Comissão do Instituto Oswaldo Cruz, chefiada pelo Prof. LAURO TRAVASSOS, realizada em Fevereiro e Março de 1940, às localidades de Ilha Sêca, Estado de S. Paulo e Salobra, Estado de Mato Grosso. Consta êle de 29 amostras, todas provenientes de Salobra. Destas, as duas de *Dicotyles pecari pecari* (Link.) ficarão para um trabalho posterior; a de *Tigrisoma lineatum marmoratum* (Vieill.) extraviou-se e uma outra de *Pygocentrus nattereri* Kner., representada por um fragmento de fêmea, era indeterminavel. Das 25 amostras restantes, 13 eram representadas por espécies já referidas em nosso país; uma outra era constituida por uma espécie encontrada por VAN CLEAVE em peixes de lagos venezuelanos, e as demais amostras eram representadas por uma espécie que consideramos nova para a ciência. Êste material foi determinado como segue:

1 — *Centrorhynchus tumidulus* (Rudolphi, 1819)

Desta espécie foram coletadas 12 amostras, dos seguintes hospedadores: *Guira guira* (Gm.) (3 amostras), *Heterospizias meridionalis meridionalis* (Lath.) (1 amostra), *Rupornis magnirostris superciliaris (Vieill.)* (7 amostras) e *Crotophaga* ani L. (1 amostra).

2 — *Mediorhynchus micracanthus* (Rudolphi, 1819)

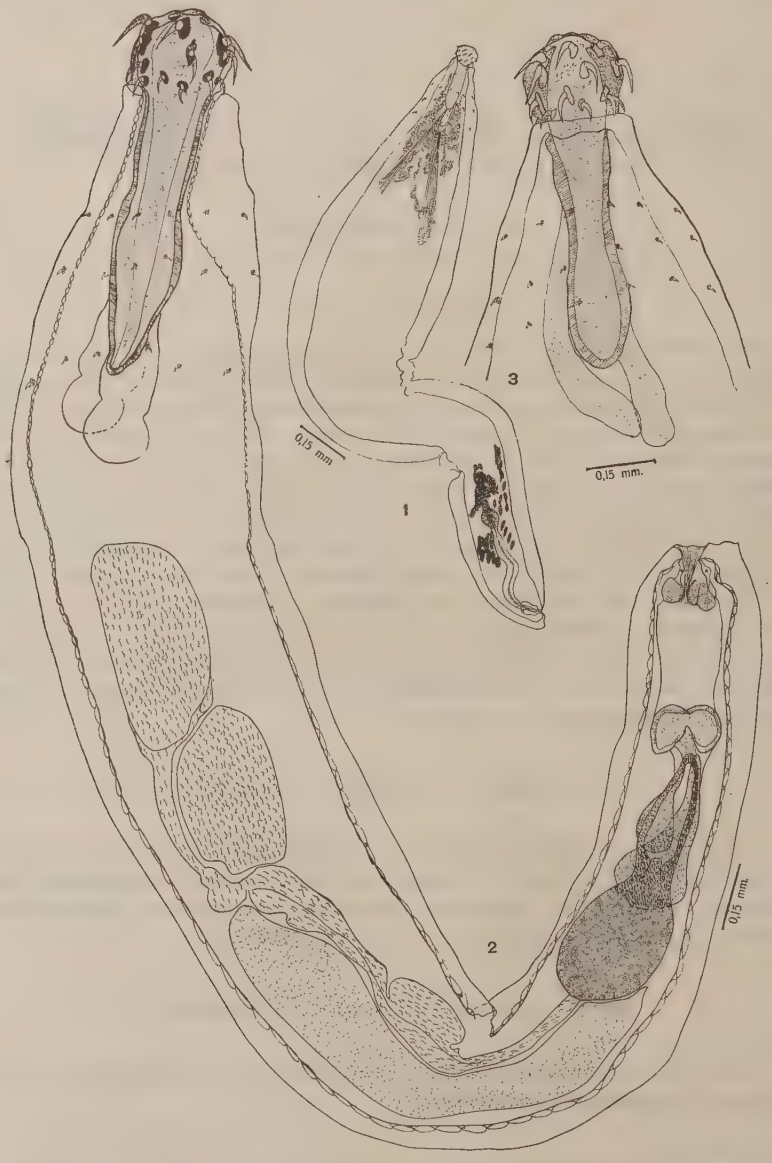
Uma só amostra representada por uma fêmea, coletada em *Trogonurus variegatus behni* (Gould).

---

1 Recebido para publicação a 17 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

3 — *Quadrigyrus torquatus* Van Cleave, 1920

Desta espécie foi coletado um exemplar jovem em *Hoplias malabaricus* Bloch.



Quadrigyrus brasiliensis n. sp. — Fig. 1 — Fêmea adulta; fig. 2 — Macho adulto; fig. 3 — Tromba do macho desenvaginada.

4 — *Quadrigyrus brasiliensis* n. sp.

(Figs. 1-7)

Comprimento — Macho 10 a 15 mm., fêmea 13 a 25 mm.

Largura — Macho 0,60 a 1,3 mm., fêmea 1 a 2 mm.

Corpo pouco longo, geralmente cilíndrico, seu diâmetro diminuindo gradativamente para a extremidade posterior, tendo seu têrço anterior um diâmetro duplo do do último têrço; isto é mais notavel quando observamos fêmeas grávidas e machos adultos. Probóscida com 0,375 mm. de comprimento por 0,480 mm. de largura, armada de ganchos resistentes, dispostos em 4 espirais, de 5 ganchos cada uma. Os ganchos das duas primeiras séries, que apresentam uma raíz desenvolvida, formando um tipo diferente daqueles das demais séries, cuja raíz é reduzida a uma implantação circular, têm as seguintes dimensões: 0,136 mm. (lâmina) e 0,096 mm. (raíz) na primeira série e 0,106 mm. (lâmina) 0,056 mm. (raíz) na segunda série. Os ganchos das terceira e quarta séries têm, respectivamente, as seguintes dimensões: 0,030 mm. (lâmina) e 0,016 mm. (raíz) e 0,024 mm. (lâmina) e 0,012 mm. (raíz). Os da última série são iguais aos da quarta. O corpo apresenta em sua porção anterior 3 círculos de espinhos, cada um constituido por 12 espinhos cuticulares, frágeis, com uma implantação característica, circular, com pequeninos círculos periféricos. Estes espinhos medem 0,048 mm. Bainha da tromba com uma única parede de revestimento, medindo 0,450 a 0,750 mm. de comprimento por 0,150 a 0,185 de largura. Leniscos mais ou menos longos, com 0,950 a 1,215 mm. de comprimento. Sistema nervoso central bem desenvolvido, localizado no último têrço da bainha da tromba.

Fêmeas com aparelho genital constituido por um saco uterino e um ovijetor que mede 1,605 mm. de comprimento. Núcleos ovígeros geralmente elíticos, são encontrados ainda em fêmeas grávidas; seu tamanho é muito variavel, os menores medem 0,037 mm. de comprimento por 0,022 mm. de largura, e os maiores 0,075 mm. de comprimento por 0,045 mm. de largura. Os ovos têm 3 envoltórios concêntricos, elíticos com 0,013 a 0,014 mm. de comprimento por 0,006 a 0,007 mm. de largura. Extremidade posterior atenuada, com abertura vulvar situada subterminalmente, na face ventral.

Machos com aparelho genital de complexidade notavel. Testículos bem desenvolvidos, situados na parte mais dilatada do corpo, sempre unidos, elíticos, o anterior geralmente maior que o posterior, medem 0,975 a 1,380 mm. de comprimento por 0,750 a 0,900 mm. de largura Canais deferentes com dilatações irregulares em seu percurso. Glândulas prostáticas em massa compacta com núcleos indistintos, medem 2,625 mm. de comprimento por 0,900 mm. de largura. Logo após às glândulas prostáticas existe uma bolsa que apresenta duas alças que se parecem unir justamente no ponto onde se vão abrir os canais deferentes e os canais das glândulas prostáticas. Essa bolsa mede 0,87 mm. de comprimento por 0,60 mm. de largura e suas alças têm 0,945 mm. de comprimento. Extremidade posterior provida de bolsa copuladora desenvolvida, com processos digitiformes inaparentes.

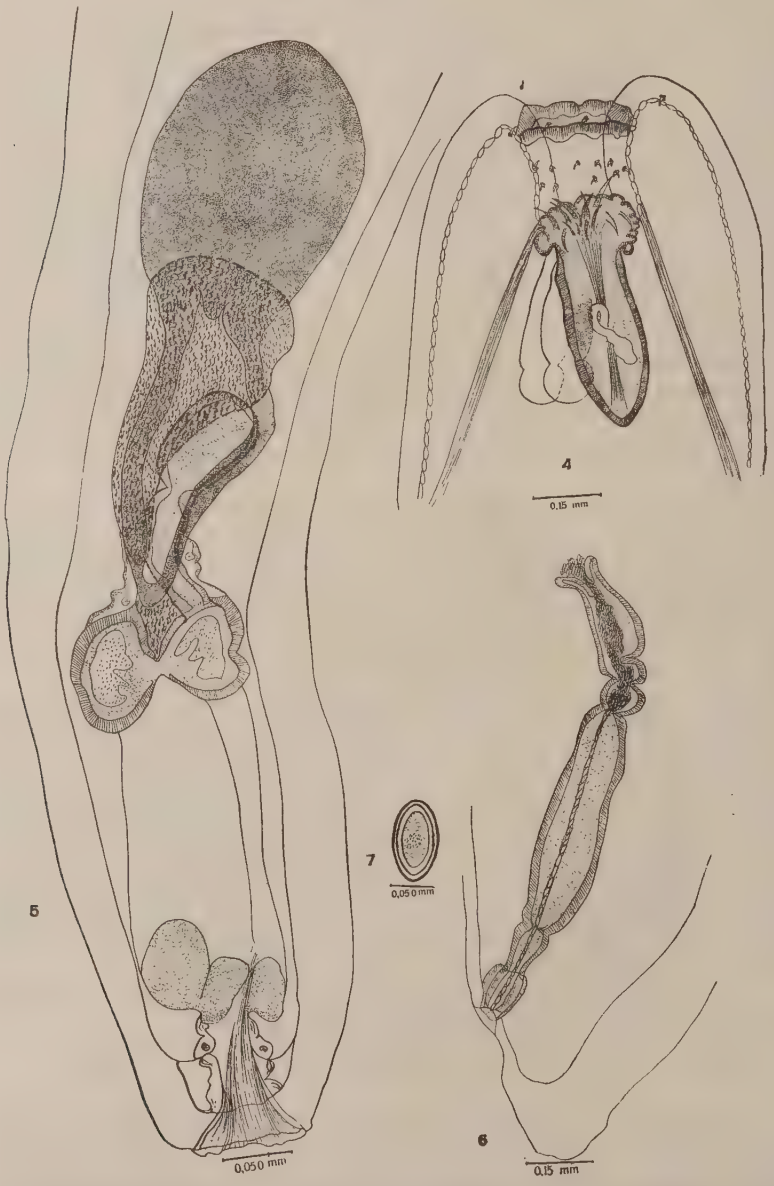
HABITAT — Intestino de *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Spix) (hospedador tipo) (10 amostras) e *Hoplias malabaricus* Bloch. (1 amostra).

PROVENIÊNCIA — Salobra, Estado de Mato Grosso, Brasil.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Discussão — O gênero *Quadrigyrus* Van Cleave, 1920, foi criado para a espécie *Q. torquatus* Van Cleave, 1920, parasito de peixes (*Hoplias malabaricus* (Bloch)) (hosp. tipo), (*Symbranchus marmoratus* Bloch, *Crenicichla geayi* Pellegrin, *Gephyrocharax valenciae* Eigen-

mann, *Astyanax bimaculatus* (L.)) de lagos da Venezuela. Somente em 1928 outra espécie foi descrita, *Q. cholodkowskyi* Kostylew, 1928, parasita de peixes (*Varicorinus sevangi* (Filippi)) da Armenia, quando



Quadrigyrus brasiliensis n. sp. — Fig. 4 — Tromba do macho, invaginada; fig. 5 — Aparelho genital masculino; fig. 6 — Ovijetor; fig. 7 — Ovo.

então foi modificada a diagnose genérica, em relação ao número de círculos de espinhos cuticulares; desta forma o primitivo carater "4 círculos de espinhos" foi substituido por "região anterior do corpo com varios círculos de espinhos cuticulares", tendo o carater numérico somente valor específico. A espécie que descrevemos difere das 2 existentes por ter 3 círculos de espinhos, cada um com 12 espinhos. Além dêste, ha outros caracteres diferenciais, tais como: dimensões dos ganchos e dos espinhos e forma da implantação dos ganchos da base da tromba. Os testículos de *Q. brasiliensis* n. sp. são, como os da espécie de Kostylew, sempre justapostos, ao contrário do que se observa na espécie de Van Cleave, onde êles são afastados.

RESUMO

O autor determina uma coleção de acantocefalos provenientes de Salobra, Estado de Mato Grosso, Brasil, que é representada por duas espécies (*Centrorhynchus tumidulus* (Rud., 1819) e *Mediorhynchus micracanthus* (Rud., 1819), já encontradas no Brasil, uma outra, *Quadrigyrus brasiliensis* n. sp., parasito de *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Spix) e *Hoplias malabaricus* Bloch, que difere das espécies existentes no gênero por apresentar 3 circulos de espinhos na região anterior do corpo e pelas dimensões dos ganchos e espinhos, assim como pela forma daqueles.

BIBLIOGRAFIA

DIESING, K. M., 1851, Systema Helminthum, 2.
KOSTYLEW, N. N., 1928, Acanthocephalen der Fische des Goktscha sees, *Zbl. Bakt.*, Orig., 108: 146-148, 3 figs.
LUEHE, M., 1905, Geschichte und Ergebnisse der Echinorhynchen-Forschung bis auf Westrumb (1821), *Zool. Ann.*, 1: 139-354.
LUEHE, M., 1911, Acanthocephalen, Die Susswasserfauna Deutschlands, Heft 16, 116 pp. 87 figs.
PORTA, A., 1905, Gli Echinorrhinchi dei Pesci, *Arch. Zool.*, 2: 149-214, pls. 10-12, 52 figs.
TRAVASSOS, L., 1926, Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. XX. Revisão dos acantocéfalos brasileiros. Parte II. Familia *Echinorhynchidae* Hamann, 1892, sub-fam. *Centrorhynchinae* Travassos, 1919, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 19 (1): 31-125, ests. 3-26, 95 figs.
VAN CLEAVE, H. J., 1920, Two new genera and species of acanthocephalous worms from Venezuelan fishes. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, 58: 455-466, pls. 27-28, 19 figs.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 63-68
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO LÁTICO NO SANGUE [1]

MARIA ISABEL MELLO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 2 gráficos)

A determinação do ácido lático no sangue requer cuidados especiais afim de que os resultados sejam uniformes e permitam uma comparação com os dados obtidos nos casos patológicos. Êsses resultados dependem não só da especificidade do método de dosagem como tambem das condições em que o sangue é colhido.

As técnicas mais em uso baseiam-se na oxidação do ácido lático em meio ácido, com produção de aldeido acético que pode ser dosado titulometricamente por iodometria ou colorimetricamente, depois da condensação com o veratrol ou o para-hidroxidifenila.

A técnica de EDWARDS (1) que é uma modificação da de FRIEDMANN, COTONIO e SHAFFER (2), foi escolhida como base na comparação com as técnicas colorimétricas. Na estandardização desta técnica empregamos o lactato de lítio que foi preparado e analisado pelo Dr. HUMBERTO CARDOSO a quem expressamos aqui os nossos agradecimentos.

Verificamos que na técnica descrita por EDWARDS, a recuperação do lactato adicionado não ultrapassou de 75 %. Introduzimos então algumas modificações que permitiram um rendimento quasi completo. Assim o tubo contendo o bisulfito foi conservado durante todo o tempo da distilação num banho a 20°C. A passagem do distilado contendo o acetaldeido foi feita através de um filtro de vidro Iena poroso, conforme a sugestão de GALVÃO, FLORENCE e PEREIRA (3). O borbulhamento pelo filtro tambem necessita de um controle rigoroso, sem o que o erro torna-se acentuado. A titulação do bisulfito de sódio combinado foi feita com a solução de iodo 0.01 N em vez de 0.02 N como usou EDWARDS e o tubo de titulação mantido na temperatura de 20°C. Para impedir a cristalização do bisulfito durante a distilação, adicionou-se 1 cc. de agua distilada.

---

1 Recebido para publicação a 18 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Bioquimica do Instituto Oswaldo Cruz — Chefe: G. G. Villela.

As determinações feitas com a técnica original e com a modificada mostram claramente que com esta última o erro diminue sensivelmente conforme se pode vêr na Tabela I.

TABELA I

Comparação entre a técnica original de Edwards e a técnica modificada

	Técnica							
	original				modificada			
N.º	*Valores* (*V*)	*Afastamentos* (*d*)	$(d)^2$	*dt*	*Valores* (*V*)	*Afastamentos* (*d*)	$(d)^2$	*dt*
1	7,00	1,88	3,5344	2,27	9,00	0,28	0,0784	0,27
2	7,85	1,03	1,0609	1,42	9,00	0,28	0,0784	0,27
3	8,55	0,33	1,1089	0,72	9,00	0,28	0,0784	0,27
4	8,55	0,33	1,1089	0,72	9,00	0,28	0,0784	0,27
5	8,55	0,33	1,1089	0,72	9,00	0,28	0,0784	0,27
6	8,55	0,33	1,1089	0,72	9,25	0,03	0,0009	0,02
7	9,00	0,12	0,0144	0,27	9,45	0,17	0,0289	0,18
8	9,00	0,12	0,0144	0,27	9,45	0,17	0,0289	0,18
9	9,00	0,12	0,0144	0,27	9,45	0,17	0,0289	0,18
10	9,00	0,12	0,0144	0,27	9,45	0,17	0,0289	0,18
11	10,35	1,47	2,1609	1,08	9,45	0,17	0,0289	0,18
12	11,25	2,37	5,7169	1,98	9,90	0,62	0,3844	0,63
			12,9563				0,9218	

Desvio Médio = 0,71
Desvio Padrão = 1,08
Erro Padrão = 0,91

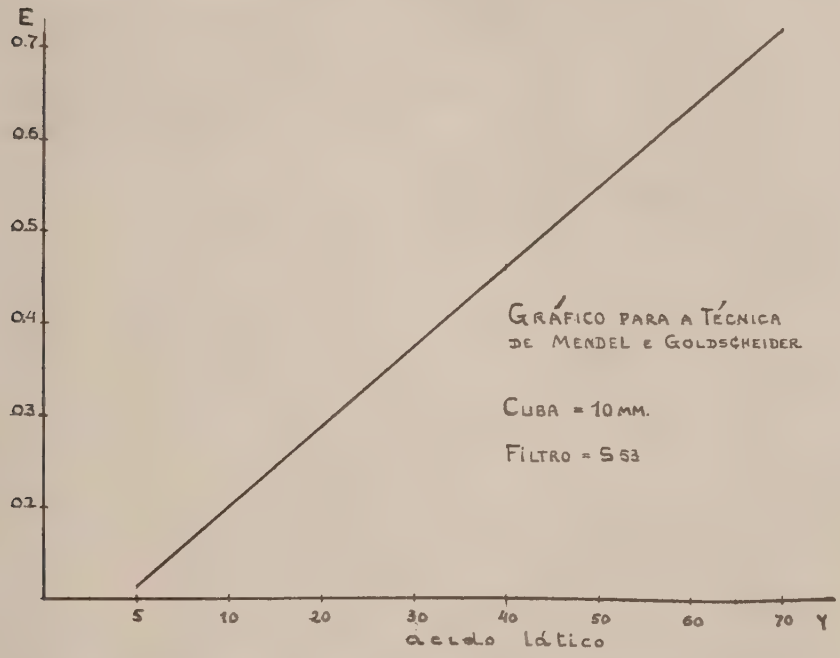
Desvio Médio = 0,24
Desvio Padrão = 0,29
Erro Padrão = 0,24

O erro padrão foi calculado pela formula 0,8454 × Desvio Médio

Desvio do teórico = dt.

As técnicas de Mendel e Goldscheider (4) e de Miller e Muntz (5) foram por nós estudadas e comparadas entre si e com a de Edwards. Em ambas as técnicas colorimétricas o ácido lático é oxidado pelo ácido sulfúrico concentrado a quente e o aldeido acético formado é copulado

com o veratrol (ester dimetil-pirocatecol) na de MENDEL e GOLDSCHEIDER e com o para-hidroxidifenila na de MILLER e MUNTZ. As leituras da intensidade de côr foram feitas fotometricamente usando-se para isso o fotômetro gradual de Pulfrich (Zeiss). As curvas de absorção com os diversos filtros espectrais mostraram que o filtro de escolha para a técnica de MENDEL e GOLDSCHEIDER é o S 53 e para de MILLER e MUNTZ é o S 57. A relação entre a extinção lida no aparelho e a concentração em ácido lático figura nos gráficos I e II.



Estudamos tambem a influência dos anticoagulantes e dos desproteinizantes. Como anticoagulantes empregamos o Liquoid Roche e o oxalato neutro de potássio. O sangue foi sempre retirado sem estase venosa e estando o paciente em repouso de pelo menos 1 hora. Com dosagens feitas imediatamente após a retirada do sangue, verificamos que a adição de fluoreto de sódio não é necessária sinão quando a dosagem só pode ser feita depois de 2 horas. A quantidade de fluoreto usada foi de 0,05 cc. da solução a 20 % para cada 5 cc. de sangue. Deve-se sempre evitar a hemólise que determina a turvação dos filtrados quando adicionados dos reativos para a produção da côr.

Na Tabela II apresentamos os resultados obtidos com os anticoagulantes acima mencionados, adicionados ou não de fluoreto de sódio. A perfeita concordância dos resultados se deve ao fato de se ter evitado sempre a hemólise e conservado os filtrados em baixa temperatura.

TABELA II

Ácido lático em mg. para 100 cc. de sangue

N.º	Técnica							
	Mendel e Goldscheider				Miller e Muntz			
	Anticoagulantes							
	Liquoid	*L + Fl*	*Oxalato*	*O + Fl*	*Liquoid*	*L + Fl*	*Oxalato*	*O + Fl*
1	11,58	11,58	11,58	11,58	11,57	11,58	11,57	11,58
2		12,90		12,90		9,27	10,19	10,19
3		9,50		99,50		9,50		9,50

L = Liquoide.
L + Fl = Liquoide + fluoreto de sódio.
O + Fl = Oxalato + fluoreto de sódio.

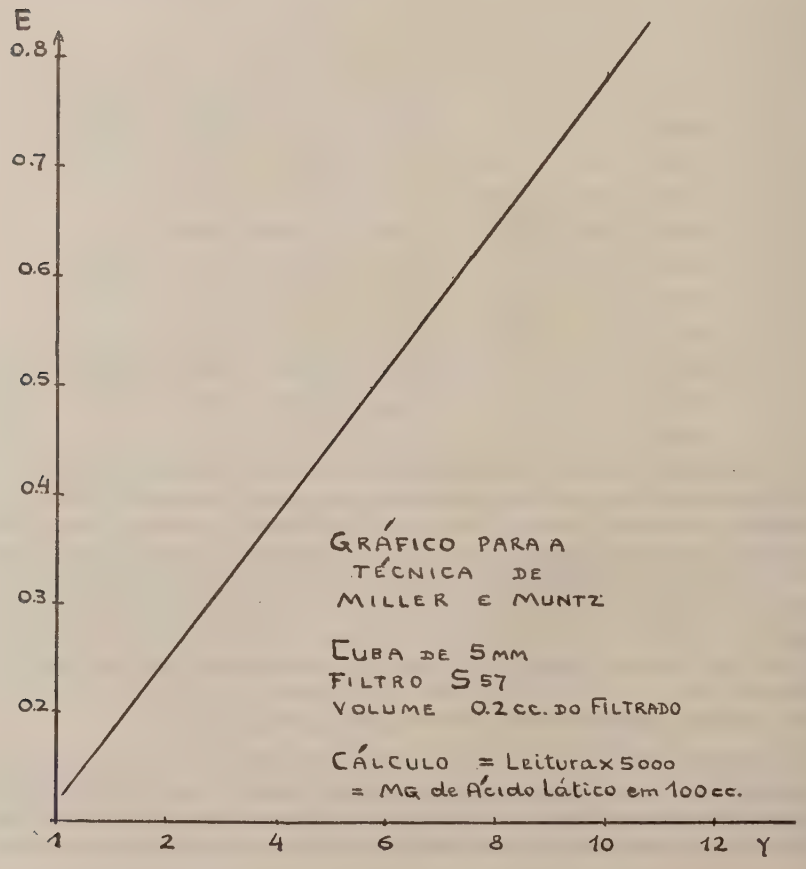


TABELA III

ÁCIDO LÁTICO EM MGS. PARA 100 CC. DE SANGUE

N.º SANGUE	DESPROTEINIZANTES					
	FOLIN e WU *Tungstato + ácido sulfúrico*		SOMOGYI *Tungstato + sulfato de cobre*		SOMOGYI *Soda + sulfato de zinco*	
	ANTICOAGULANTES					
	Liquoide + Fl	*Oxalato + Fl*	*Liquoide + Fl*	*Oxalato + Fl*	*Liquoide + Fl*	*Oxalato + Fl*
TÉCNICA MENDEL e GOLDSCHEIDER						
1	11,58	11,58	13,85	13,88	10,19	
2	12,90	12,90	13,90	13,90	10,19	11,25
3	9,50	9,50	9,50	9,50	9,00	9,50
TÉCNICA MILLER e MUNTZ						
1	11,58	11,58	12,03	12,03		
2	10,19	11,25	13,90	13,90	10,19	10,19
3	9,50	9,50	10,25	10,25	9,50	11,25

A dosagem do ácido lático está de certo modo condicionada ao *pH* dos filtrados do sangue e portanto ao desproteinizante usado. A técnica de SOMOGYI pela precipitação com tungstato de sódio e sulfato de cobre (6) (7) foi a que nos deu os melhores resultados. Por êste meio são removidas todas as substâncias que interferem na produção de côr pelo veratrol ou pelo para-hidroxidifenila. Os nossos ensaios foram feitos com o sangue liquoidado adicionado de fluoreto de sódio (Tabela III).

As nossas determinações do ácido lático no sangue humano normal se acham tabeladas abaixo e foram feitas pelas três técnicas estudadas, sendo que os valores inferiores se obtiveram com a técnica de EDWARDS modificada. Os desvios médios encontrados foram de 2,91 para a técnica de EDWARDS, de 4,46 para a de MILLER e MUNTZ e de 3,68 para a de MENDEL e GOLDSCHEIDER.

TABELA IV

SANGUE HUMANO NORMAL

Ácido lático em mg. para 100 cc. de sangue total

N.º	*Técnica de* EDWARDS *modificada*	*Técnica de* MILLER *e* MUNTZ	*Técnica de* MENDEL *e* GOLDSCHEIDER
1	—	6,90	6,94
2	—	6,95	6,94
3	—	6,95	7,02
4	7,30	7,27	10,19
5	7,65	7,62	7,62
6	8,55	8,32	10,09
7	9,00	9,27	9,50
8	—	9,50	9,50
9	—	9,50	10,25
10	—	9,75	10,19
11	—	10,25	10,50
12	—	11,57	11,58
13	11,75	11,85	12,03
14	—	12,00	12,90
15	12,60	13,90	12,05
16	13,00	13,00	13,00
17	13,50	13,90	13,05
18	13,90	13,90	13,90
19	13,90	13,90	13,90
20	15,25	15,40	14,45
Médias	10,30	10,58	10,78
Desvio Médio	2,96	4,46	3,68

ABSTRACT

Determination of lactic acid in blood.

Blood lactic acid was determined in 20 normal human bloods by the technics of Edwards modified by the A., Miller and Muntz and Mendel and Goldscheider. The averages obtained were the followings: 10.30 mg. (Edwards modified), 10.58 mg. (Miller and Muntz) and 10.78 mg. per 100 cc. (Mendel and Goldscheider). An investigation of the influence of anticoagulants and protein precipitants is reported. The best results for the removal of blood proteins and interfering substances were obtained with Somogyi's procedure (sodium tungstate and copper sulphate). Two graphics for the photometric readings adapted to the Miller and Muntz and Mendel and Goldscheider technics are presented.

BIBLIOGRAFIA

1. EDWARDS, H. T., 1938, A, simplified estimation of lactate in normal human blood *J. Biol. Chem.*, 125: 571-583.
2. FRIEDMANN, T. E., COTONIO M. & SHAFFER P. A., 1927, The determination of lactic acid., *J. Biol. Chem.*, 73: 335-358.
3. GALVÃO, P. E., FLORENCE, C. H. & PEREIRA, J., 1938, Modificação do método permanganico iodometrico para a dosagem do acido latico. *Arch. Inst. Biol. São Paulo*, 9: 39-50.
4. MENDEL, B., & GOLDSCHEIDER, I., 1925, Ueber den Milchsauregehalt des Blutes unter physiologischen und pathologischen Bendigungen. *Bioch. Z.*, 164: 162-174.
5. MILLER, B. & MUNTZ, J. A., 1938, Method for estimation of ultramicroquantities of lactic acid. *J. Biol. Chem.* 126: 413-421.
6. SOMOGYI, M., 1930, A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. *J. Biol. Chem.* 86: 655-663.
7. SOMOGYI, M., 1931, The use of copper and iron salts for the deproteinization of blood, *J. Biol. Chem.* 90: 725-729.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 69-73
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

BIOQUÍMICA DO SANGUE DO CRUSTÁCEO "UCA MARACOANI" [1]

I. Cálcio, Fósforo e Protídeos totais

GILBERTO G. VILLELA e LEJEUNE P. H. DE OLIVEIRA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

O conhecimento da bioquímica do sangue ou hemolinfa dos invertebrados marinhos ainda é hoje bastante incompleto. No que se refere aos crustáceos dos mares europeus e norte americanos podem ser mencionados os trabalhos de Botazzi e Frédericq, Witting, Kruckenberg, Bethe e Berger, Halliburton, Heim, Robertson, Gautrelet, Allison e Cole, Smith sobre a composição química e as propriedades biológicas do sangue de várias espécies, principalmente dos gêneros *Homarus, Astacus, Carcinus* e *Maia*. A bioquímica do sangue dos crustáceos não tendo, por enquanto, sido estudada entre nós, procedemos à análise dos componentes químicos do sangue da espécie *Uca maracoani* (Latreille, 1802) que sendo abundante nas proximidades do Instituto nos veiu fornecer um material adequado para essas investigações.

Foi nosso intuito determinar primeiramente os valores normais do sangue nas condições habituais de vida dêsses crustáceos, para que mais tarde pudessemos abordar diversos problemas relacionados com a sua biologia, tais a mudança da carapaça, a adaptação às variações do meio salino, etc.

Nesta primeira nota são referidos somente alguns dados iniciais sobre as constantes físico-químicas (*pH*, tensão superficial, índice refratométrico) e sobre a composição química do plasma (cálcio, fósforo, proteinas).

A *Uca maracoani* (Latreille, 1802) é um *Decapoda, Brachiura* da família *Ocypodidae*, e foi descrito anteriormente por um de nós (1). E' um crustáceo vulgarmente denominado "tesoura" ou "caranguejo tesoura", de forma quadrada, côr avermelhada e de fronte estreita. Os exemplares foram apanhados nos manguesais da Ilha do Pinheiro e nos pântanos e estuários do Rio Faria, nas proximidades do Instituto Os-

1 Recebido para publicação a 18 de Fevereiro de 1941.
Trabalho dos Laboratórios de Bioquimica e de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz.

waldo Cruz, onde êles vivem em grande número. As condições de captura foram sempre as mesmas, entre a vasante e o baixamar, pela manhã antes das 11 horas, quando êsses crustáceos estão fora de suas tocas. Os animais defeituosos não foram utilizados nem tampouco aqueles apresentando autotomia das patas. Com relação y carapaça, foram escolhidos exemplares de aspecto semelhante, de calcificação bôa, rija e com sulcos e regiões bem delimitados. A côr foi sempre pardo-purpúrea, isto é, atropurpúrea pela tabela de Saccardo ou palissandre N.º 126 pelo código de côres de E. Séguy. Evitou-se de sangrar os animais com dimensões acima da média (largura da carapaça de 34 a 41 mm.) ou menores de 32 mm. de largura por serem muito frageis e mal calcificados. Todos os exemplares eram machos e não muito velhos.

Técnicas adotadas

Os caranguejos foram sempre sangrados no mesmo dia da captura e logo após a chegada no laboratório. A técnica usada para a retirada do sangue foi a da punção na articulação quelípodo-carpal, descrita para a *Uca pugnax brasiliensis* por Oliveira e Moreira (2). A punção se faz introduzindo a ponta de uma pipeta Pasteur através das membranas articulares das patas. A quantidade retirada de cada animal foi de cêrca de 3 cc. de sangue. O anticoagulante empregado foi o "liquoid" Roche na quantidade de 3 mg. para cada 3 cc. de sangue. Prepararam-se os tubos com 0,3 cc. da solução de "liquoid" a 1 % que é evaporada na estufa a 100º C. O sangue depois de misturado ao anticoagulante se mantem indefinidamente líquido. A côr vai do azulado ao azul forte, dependendo da agitação ao ar. As dosagens foram feitas no plasma depois da centrifugação do sangue.

A tensão superficial foi determinada pelo aparelho de Du Noüy (tensiômetro), na temperatura de 21º C. O resultado refere-se portanto em dinos. A determinação do pH foi feita eletrometricamente com o potenciômetro Pehavi e a correção da temperatura para 18º C. O índice refratométrico foi medido na temperatura de 20º e corrigido para 17,5º. Usou-se o refratômetro de Abbé-Zeiss com circulação de agua.

As dosagens químicas foram executadas por técnicas usuais adaptadas para um volume pequeno de sangue. O cálcio foi dosado em 0,5 cc. do plasma liquoidado e centrifugado. A técnica de dosagem foi a de Kramer e Tisdall, modificada por Clark e Collip. A titulação final se fez ora com a solução de sulfato cérico ora com a de permanganato de potássio, ambas 0.01 N. Para a dosagem do fósforo inorgânico ácido soluvel tivemos que modificar a técnica colorimétrica de Fiske e Subbarow (3) no que respeita às quantidades dos reativos e a leitura no fotômetro de Pulfrich que permite maior precisão. Os detalhes desta técnica são os que seguem:

Tomam-se 2 cc. de plasma liquoidado e límpido e adicionam-se 8 cc. da solução de ácido tricloracético a 20 %, gota a gota. Agita-se bem e

filtra-se. Tomam-se 5 cc. do filtrado que se colocam num balão de 10 cc. Juntam-se 2 cc. da solução de molibdato de amônio e 0,5 cc. da solução do reativo amino-nafto-sulfônico. Deixam-se 15 minutos exatos ao abrigo da luz e completa-se o volume para 10 cc. com agua distilada. A leitura é então feita no fotômetro, na cuba de 10 mm. e o filtro espectral S 72. O resultado lido em extinção é multiplicado por 6,9 para se obter o fósforo em mg. para 100 cc. de plasma.

Para a determinação das proteinas totais empregamos a técnica publicada por um de nós para o plasma humano (4). Toma-se 1 cc. de plasma em tubo tarado especial de centrifugação e adicionam-se lentamente 10 cc. da solução precipitante de álcool-acetona (1:1). Centrifuga-se e lava-se o precipitado por centrifugação com a solução de álcool-acetona. Seca-se na estufa a 110° e pesa-se. A diferença de peso entre a tara antes e depois da precipitação exprime o peso do precipitado.

Resultados

Constantes físico-químicas:

pH eletrométrico a 18° C.	de 7.62 a 7.67
Tensão superficial no sangue total liquoidado	65 dinos
Tensão superficial no sôro depois da 1.ª coagulação	54 dinos
Índice refratométrico	de 1.3465 a 1.3597

A média obtida para o cálcio foi de 51,2 mg. com as variações de 39,1 a 56,8 mg. para 100 cc. e para o fósforo ácido-soluvel foi de 2,09 mg. com as variações de 1,2 a 2,5 mg. para 100 cc. de plasma. A relação Ca/P é elevada 25,6. A média encontrada para os protídeos totais precipitaveis pelo álcool-acetona foi de 7,21, com os extremos de 5,94 a 8,16 gr. para 100 cc. de plasma.

A inspeção do Quadro I revela que a concentração do cálcio e do fósforo é bastante elevada quando comparamos êstes resultados aos obtidos por Damboviceanu para o sangue do *Astacus fluviatilis*. Êste autor encontrou as variações para o cálcio de 36 a 43 mg. % e para o fósforo de 1,5 a 1,7 mg. %. Quanto aos protídeos totais os nossos resultados se aproximam dos dêste autor que obteve valores variaveis de 4 a 7 gr. %. (5).

Dosando o fósforo total, procuramos saber si todo o fósforo é ácido soluvel e inorgânico. Os dados encontrads em 4 casos mostram que praticamente todo o fósforo é capaz de ser retirado pelo ácido tricloracético.

QUADRO I

Composição do plasma da Uca maracoani *em Ca, P e protídeos*

N.º	*Cálcio*	*Fósforo ácido-soluvel*	*Protídeos totais em gr. para 100 cc.*
	em mg. para 100cc.		
1	55,6	2,4	7,43
2	56,4	1,2	7,68
3	60,0	2,4	6,88
4	56,2	2,4	5,94
5	39,1	2,3	6,32
6	40,3	2,2	7,60
7	55,0	1,5	7,30
8	41,6	2,5	7,64
9	50,0	2,5	7,67
10	56,8	2,0	6,59
11	52,4	1,7	8,16
12	51,2	2,0	7,40
Médias	51,2	2,09	7,21

QUADRO II

	Fósforo ácido-soluvel em mg. para 100 cc.	*Fósforo total de plasma*
1	2,4	2,4
2	2,2	2,4
3	2,0	2,1
4	2,3	2,4

O fracionamento dos protídeos foi ensaiado pela precipitação com a solução de sulfato de sódio a 22,2 %, conforme a técnica de Howe. Foi possivel verificar, si bem que o número de determinações ainda seja pequeno, que 66 a 70 % dos protídeos não é precipitavel pelo sulfato de sódio nessa concentração e portanto deve se achar sob a forma de albuminas. Um estudo mais detalhado sobre a composição química do plasma da *Uca* será publicado por nós brevemente.

ABSTRACT

BIOCHEMISTRY OF THE BLOOD OF THE CRAB "UCA MARACOANI"

I. *Calcium, Phosphorus and total proteins*

1. The blood of the crab *Uca maracoani* (Latreille, 1802) living in the bay of Rio de Janeiro near our Institute, was studied. This crab is a *Decapoda, Brachiura* belonging to the family *Ocypodidae*.

2. The blood (3cc) was withdrawn by puncture through the articular membranes with a Pasteur pipette and collected directly in tubes containing 0,3 mg. of liquoid Roche to prevent coagulation. Except for pH all the determinations were done with centrifuged plasma.
3. The pH, surface tension and refractometric index of the plasma were determined. The calcium, acid soluble phosphorus and total proteins concentrations were reported. The following averages were obtained:

pH (electrometric) total blood without liquoid)	7.62
Surface tension (Du Noüy's tensiometer)	6.3 dynes
Refractometric index (Abbé-Zeiss)	1.3465 to 1.3597
Calcium	39.1 to 56.8 mg (average 51.2 mg %)
Phosporus (acid soluble)	1.2 to 2.5 mg % (average 2.09 mg)
Total proteins	5.94 to 8.16 gr % (average 7.21 gr. %)

Almost all the phosphorus is in acid soluble condition.

BIBLIOGRAFIA

1) OLIVEIRA, L. P. H., 1939, Contribuição ao conhecimento dos crustaceos do Rio de Janeiro — Genero *Uca* (Decapoda: Ocypodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 34 (1) 123-126, ests.
2) OLIVEIRA, L. P. H. & MOREIRA, C. A., 1940, Estudos sobre os elementos figurados do sangue do crustaceo *Uca pugnax* (Smith) *var. Brasiliensis* Oliveira (Decapoda: Ocypodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 35 (2): 317-325, est. 1, fig. 1-10.
3) FISKE, C. H. & SUBAROW, Y., 1925, The colorimetric determination of Phosphorus. *J. Biol. Chem.,* 66: 375-379.
4) VILLELA, G. G., 1936, Technica simples e precisa para a dosagem dos protides totais no plasma e na urina. *Hospital,* 8 (1): 5.
5) DAMBOVICEANU, A., 1932, Composition chimique et Physico Chimique du Liquide Cavitaire chez les Crustacés Decapodes. *Arch. Roumaines Path. Exp. et Microb.,* 5 (2): 239-309, ests. 1-3.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 75-79
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

CONSTANTES FÍSICAS DOS ÁCIDOS DA SÉRIE CHAULMÚGRICA E SEUS DERIVADOS ETÍLICOS [1]

Parachor, refração molecular específica e constante de Eötvös

HUMBERTO T. CARDOSO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Em continuação às investigações que vimos realizando com os ácidos da série chaulmúgrica, no sentido de esclarecer as causas dos seus diferentes graus de atividade biológica, iniciamos o estudo de determinadas constantes físicas dêsses ácidos graxos e dos seus ésteres etílicos.

Êsse estudo começou pela tensão superficial, com cujos dados calculamos o "parachor" dêsses compostos. Os resultados encontrados, tanto neste particular como no de outras constantes, pareceram-nos interessantes para serem publicados como dados adicionais aos já conhecidos.

Alguns autores têm-se preocupado da determinação do "parachor" dos ácidos graxos, em geral, e dos seus derivados. No caso particular dos da série chaulmúgrica, ainda não haviam sido determinadas essas constantes e os valores por nós observados não apresentam anormalidades, quando comparados com os obtidos em outras séries orgânicas. Êste fato vem de encontro às opiniões de certos pesquizadores que afirmaram que os resultados que se obtêm com esta classe de compostos são sempre muito afastados dos valores teóricos.

Mencionaremos alguns dos resultados publicados, começando pelo de ELLIS (1), sobre o palmitato de etitla, o qual encontrou o valor de P igual a 785.7, que é 3.11 % mais elevado que o calculado com os "parachors" atômicos de SUGDEN e 1.25 % mais alto que com os de MUNFORD e PHILLIPS.

Outro trabalho citado na bibliografia é o de LEDERER (2), com os ácidos láurico, palmítico, esteárico e oleico. Os resultados obtidos para P foram respectivamente 522.5, 668.0 e 735.0 (para o ácido oleico não foi fornecido o valor de P), sendo as diferenças para os dados teóricos, na mesma ordem, -2.3, -12.3 e -23.3, isto é, todas negativas.

---

1 Recebido para publicação a 19 de Fevereiro de 1941.
Trabalho da Seção de Química do Instituto Oswaldo Cruz.

Ainda convem citar o estudo de SEMERIA e RIBOTTI-LISSONI (3), com os ácidos oleico e eláidico, em que encontraram para ambos o valor de P inferior ao teórico de SUGDEN, ou seja, respectivamente, 765.07 e 760.44, a 90°C., e 766.93 e 764.93, a 95° C.

Ao determinarmos os "parachors" dos ácidos da série chaulmúgrica e dos seus ésteres etílicos, pudemos constatar que os dados obtidos com os ésteres concordavam bem proximamente com os teóricos de SUGDEN, sendo porém sempre ligeiramente superiores a estes. Isto já não se dá com o ácido górlico, cuja discrepância em relação ao valor teórico é bem maior e em sentido negativo.

O ácido oleico e o oleato de etila, examinados da mesma forma, vieram confirmar os dados anteriores, isto é, o ester apresenta-se com P superior e próximos ao teórico, enquanto que o ácido oleico se mostrou mais afastado e com valor bem inferior a êste.

Parece, pois, em vista dos nossos resultados e dos dos autores que nos precederam, que os ácidos livres apresentam valores de P inferiores aos calculados com as constantes atômicas de SUGDEN enquanto que os seus ésteres etílicos os ultrapassam.

A fórmula para o cálculo do "parachor" foi a de SUGDEN, $P = M.\ \gamma^{1/4} / (D-d)$.

Aproveitando os dados que possuíamos, tambem calculamos a refração molecular específica, segundo a fórmula de LORENZ e LORENTZ.

Nos quadros 1, 2 e 3 aparecem resumidos os dados observados além das demais constantes físicas obtidas.

Quanto à refração molecular específica, se poderá verificar no quadro número 3 que os valores calculados com as densidades relativas à agua a 4° C. se apresentam mais afastados dos obtidos com as refrações atômicas do que os que levaram em conta as densidades relativas à agua a 25° C., exceção feita ao ácido górlico.

Ainda, completando as determinações que nos foram possiveis fazer com o material de que dispunhamos, calculamos a constante de Eötvös-Ramsay-Shields, $k_E = \frac{d(M/D)^{2/3}\ \gamma}{dt}$.

No quadro número 4 aparecem reunidos os resultados obtidos para o chaulmugrato, o hidnocarpato e o oleato de etila e para o ácido oleico.

PARTE EXPERIMENTAL

Quasi todo o material empregado nas determinações referidas anteriormente corresponde à máxima puresa química e foram preparados pelos métodos referidos nos trabalhos de COLE e CARDOSO (4,5 e 6), usando o aparelho de distilação fracionada no vácuo, com alta precisão, de PODBIELNIAK.

A tensão superficial foi determinada com aparelho CENCO-DE NOÜY, pelo método do arrastamento do anel.

Infelizmente, foi-nos impossivel completar as determinações que estamos descrevendo, com todos os ácidos e derivados chaulmúgricos porque alguns deles se alteram rapidamente e, para aguardar novas e maiores quantidades dos mesmos, retardaríamos por mais de um ano a exposição dos resultados já obtidos.

Chaulmugrato de etila: Este composto proveiu da 4.ª fração da distilação 14-B. Características: $[\alpha]_D^{25°} = + 55°4$; $I_n = 82.5$ (Hanus).

Hidnocarpato de etila: Este material é da 2.ª fração da distilação 15-B. Características: $[\alpha]_D^{25°} = + 61°9$; $I_n = 90.5$ (Hanus).

Aleprato de etila: Proveiu da 2.ª fração da distilação 53-W. Características: $[\alpha]_D^{25°} = + 66°5$; $I_n = 100.7$ (Hanus).

Aleprilato de etila: Obtido da 1.ª fração da distilação 31-W. Características: $[\alpha]_D^{25°} = + 79°1$; $I_n = 113.4$ (Hanus).

Ácido górlico e gorlato de etila: Obtidos da 5.ª fração da distilação 29-B. Características: respectivamente, $[\alpha]_D^{25°} = + 60°7$ e $+ 55°4$; $I_n = 179.7$ e 166.2 (Hanus).

Ácido oleico: Da 2.ª fração da distilação 42-A. Característica: $I_n - 90.1$ (Hanus).

Oleato de etila: Da 4.ª fração da distilação 34-A. Característica: $I_n = 81.5$ (Hanus).

QUADRO I

Tensão superficial e "Parachor" de alguns ácidos graxos e seus ésteres etílicos

COMPOSTO	M	γ dinas/cm.		P(Sugden) Obsrv.		P(Sugden) Calcl.	*Afastamentos* %	
		25°C.	35°5C.	25°C.	35°5C.			
Chaulmugrato de etila ..	308.3	35.2	34.5	833.4	832.8	826.3	+ 0.85	+ 0.78
Hidnocarpato de etila ...	280.2	34.7	34.1	751.5	751.8	748.3	+ 0.42	+ 0.46
Aleprato de etila	252.2	34.7	....	671.1	....	670.3	+ 0.11	....
Oleato de etila	310.2	32.8	31.9	857.1	856.2	852.0	+ 0.59	+ 0.49
Ácido górlico	278.2	37.6	....	732.2	....	737.5	— 0.71	....
Ácido oleico	282.2	34.3	33.9	765.6	765.1	774.0	— 1.08	— 1.14

QUADRO II

Densidades de alguns ácidos graxos e seus ésteres etílicos

COMPOSTO	DENSIDADES			
	25/4°C.	35.5/4°C.	25/25°C.	35.5/35.5°C.
Chaulmugrato de etila	0.9010	0.8952	0.9032	0.9008
Hidnocarpato de etila	0.9050	0.8986	0.9077	0.9042
Aleprato de etila	0.9120	.....	0.9147	.....
Aleprilato de etila	0.9222	.....	0.9250	.....
Gorlato de etila	0.9092	.....	0.9119	.....
Oleato de etila	0.8661	0.8590	0.8687	0.8643
Ácido górlico	0.9408	.....	0.9436	.....
Ácido oleico	0.8920	0.8867	0.8947	0.8922

QUADRO III

Indices de refração e refração molecular especifica

COMPOSTO	25°C. n_D	R. M. Observada com		R. M. Calculada	*Afastamentos*	
		d:25/4°	d:25/25°		(1)	(2)
Chaulmugrato de etila ..	1.4592	93.550	93.322	93.371	+ 0.177	— 0.049
Hidnocarpato de etila ...	1.4578	84.431	84.180	84.165	+ 0.276	+ 0.015
Aleprato de etila	1.4562	75.189	74.967	74.959	+ 0.230	+ 0.008
Aleprilato de etila	1.4550	65.956	65.757	65.752	+ 0.203	+ 0.004
Gorlato de etila	1.4660	93.284	93.008	92.976	+ 0.308	+ 0.032
Oleato de etila	1.4495	96.129	95.841	95.473	+ 0.656	+ 0.368
Ácido górlico	1.4782	83.714	83.465	83.770	— 0.056	— 0.305
Ácido oleico	1.4591	86.494	86.233	86.267	+ 0.127	— 0.024

QUADRO IV

Constante de Eötvös	E_k
Chaulmugrato de etila	2.57
Hidnocarpato de etila	2.00
Oleato de etila	3.40
Ácido oleico	4.50

CONCLUSÕES

O "parachor" foi determinado para alguns compostos da série chaulmúgrica e os resultados obtidos estão bem próximos dos calculados com os "parachors" atômicos de SUGDEN. Foi notado o afastamento, no sentido negativo, dos ácidos graxos livres e, em sentido positivo, dos ésteres étílicos.

Ainda, quanto aos ésteres etílicos, os resultados observados não estão muito afastados dos teóricos, o que contraria a opinião de certos autores de que, nesta classe de compostos, se obtêm dados muito discordantes.

A refração molecular específica foi calculada e apresentada no quadro 3. Os valores obtidos com as densidades relativas à agua a 25° C. são mais próximos dos teóricos que os calculados com as densidades relativas à agua a 4° C.

A constante de Eötvös-Ramsay-Shields foi determinada para alguns compostos. O ácido oleico mostrou-se mais afastado do valor 2.12, provavelmente devido à presença de certa quantidade de ácido eláidico, que naturalmente se forma.

BIBLIOGRAFIA

1) ELLIS, C. P., 1932, Ethyl palmitate. Its density, surface tension, parachor and Eötvös-Ramsay-Shields coefficient. *J. Chem. Soc.*, 1697-1699.
2) LEDERER, E. L., 1930, The physiological chemistry of fatty acids. VII. The parachor values of fatty acids. *Zeifensieder Zeit.*, 57: 575-576 (cit. *in Chem. Abs.*, 1930, 24: 5549).
3) SEMERIA, G. B. & RIBOTTI-LISSONI, G., 1930, The parachor of some aliphatic acids of high molecular weight. *Gaz. chim. ital.*, 60: 862-866 (cit. *in Chem. Abs.*, 1931, 25: 1800).
4) COLE, H. I. & CARDOSO, H. T., 1937, Hydnocarpic and chaulmoogric acids and ethyl esters. *J. Amer. Chem. Soc.*, 59: 963-965.
5) COLE, H. I. & CARDOSO, H. T., 1938, Isolation and properties of gorlic acid, on optically active liquid fatty acid., *J. Am. Chem. Soc.*, 60: 612-614.
6) COLE, H. I. & CARDOSO, H. T., 1939, Alepric, aleprilic, aleprestic and aleprolic acids, new homologs of chaulmoogric acid. *J. Am. Chem. Soc.*, 61: 2349-2351.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 81-82
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE AS ALTERAÇÕES DA PELE DO CÃO NO KALA AZAR SUL-AMERICANO [1]

C. MAGARINOS TORRES
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

As seguintes conclusões foram alcançadas após minucioso estudo microscópico de 88 biópsias de pele praticadas em cinco cães infetados com amostras humana e canina de Kala Azar sul-americano.

São aqui apresentadas como nota prévia de artigo documentado, o qual será oportunamente publicado nas Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.

Agradecemos ao Dr. A. Marques da Cunha a oferta do material, sobremodo precioso para um estudo sistemático das alterações cutâneas no Kala Azar. Quasi todas as biópsias, com efeito, foram praticadas de 15 em 15 dias, durante toda a doença experimental, ou seja, durante um período, geralmente, de dez meses.

1) As lesões cutâneas ocasionadas, diretamente, pelos parasitos do Kala Azar sul-americano, constam de infiltração da *pars papillaris* e porção superior da camada reticulada do corium, por histocitos. Os parasitos, raros, a princípio, tornam-se, em fases adiantadas, abundantes no citoplasma dessas células.

Por vezes os histocitos, parasitados ou não, reunem-se em nódulos distintos (*granuloma histocitario*), com distribuição perivascular. As localizações mais frequentes do granuloma histocitário são, a visinhança dos capilares das papilas, os vasos das glândulas sudoríparas, o plexo subpapilar e os ramos anastomóticos verticais entre os plexos subpapilar e subdérmico.

2) Tais lesões cutâneas mostram carater transitório e tendência espontânea para a regressão. Esta se efetua em consequência de uma transformação gradual dos histocitos, parasitados ou não, em células fixas do tecido conjuntivo (*transformação fibroblástica* do granuloma histocitário).

As lesões não são uniformes, nem simultâneas, a mesma fase podendo ser achada em períodos diferentes de evolução da doença, fases

---

1 Entregue para publicação a 20 de Fevereiro de 1941.
Trabalho da Seção de Anatomia Patologia do Instituto Oswaldo Cruz.

diferentes, por outro lado, podendo aparecer em fragmentos de pele de regiões diversas, colhidos na mesma ocasião.

3) No decurso do Kala Azar experimental, verifica-se uma inundação do tecido conjuntivo cutâneo, por células vindas do sangue, já nas primeiras semanas da infecção (fase prodrômica), quando nenhum parasito é ainda encontrado na pele. Traduz-se, nêsse período, por aumento do número de células na visinhança dos vasos. Em fases adiantadas é comum verificar-se infiltração consideravel por células ameboides migradoras, de dimensões e morfologia sensivelmente semelhantes às de monocitos típicos do sangue, associadas a pequeno número de linfocitos e de células plasmáticas, o que indica que a emigração de células vindas do sangue prossegue, de modo contínuo ou intermitente, durante toda a evolução da doença.

A infiltração acompanha, de preferência, o plexo superficial e os ramos verticais anastomóticos entre os plexos sub-papilar e sub-dérmico, onde, incidentemente, a circulação do sangue é mais lenta.

Verifica-se, assim, no Kala Azar experimental, consideravel infiltração celular dos tecidos, não relacionada com a presença, aí, de parasitos, mas antes com alterações concomitantes do sangue e dos orgãos hematopoiéticos.

4) Os cães com Kala Azar experimental são sujeitos a uma dermatite vesico-pustulosa, ocasionalmente ulcerosa, e, bem assim, a uma foliculite supurada e perifoliculite, não relacionadas, aparentemente, com o próprio agente etiológico do Kala Azar.

5) A estase linfática faz parte do quadro histológico das lesões cutâneas, no Kala Azar. Células contendo *Leishmanias* são encontradas, em número consideravel, nas paredes e nos arredores de vasos linfáticos cutâneos superficiais em ectasia.

Êsse fato revela a possibilidade de infestação do hospedeiro intermediário, pela ingestão de linfa contida nos espaços intercelulares e no plexo linfático superficial.

6) A tumefação das patas, referida pelos autores em hamsters injetados com *Leishmania infantum,* foi observada em um cão. Ao microscópio, as lesões constam de edema e consideravel infiltração celular por histocitos, células ameboides migradoras semelhando monocitos do sangue, e, em menor número, células plasmáticas e "mast-cells" histogênicas. Os parasitos são raros ou ausentes, nêsse infiltrado.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 83-85
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SOBRE O "LYPEROSOMUM RUDECTUM" BRAUN, 1901. UM EQUÍVOCO NA DESCRIÇÃO DÊSTE PARASITO [1]

LAURO TRAVASSOS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 2 figuras no texto)

BRAUN, em 1901, descreveu sob o nome de *Lyperosomum rudectum* um trematódeo Dicrocelídeo encontrado no frasco 731 da coleção do Museu de Viena, e colecionado no Brasil em *Ibis caerulescens* Vieill. Estava rotulado como proveniente do intestino como aliás todos os Dicrocelídeos colecionados por NATTERER.

Em 1902 o mesmo autor dá uma bela figura do parasito e reproduz a descrição. Em 1919, fazendo um estudo de conjunto sobre os Dicrocelídeos, estabelecemos para esta espécie um novo gênero *Lyperotrema* baseando-nos na descrição de BRAUN que refere e representa vitelinos laterais e muito desenvolvidos, estendendo-se até a zona bifurcal, e pelos testículos lobados profundamente, estrutura única observada em espécies do gênero *Lyperosomum* Looss, 1899.

Desde esta época nos temos esforçado por obter material desta espécie. Nas últimas excursões que realizamos no Estado de Mato Grosso tivemos oportunidade de examinar vários exemplares de *Harpiprion caerulescens* (Vieillot) tendo com frequência encontrado na vesícula e canais biliares exemplares de uma espécie do gênero *Athesmia* Looss, 1899, cujas dimensões correspondem às do parasito de BRAUN, bem como pela lobulação das glândulas genitais.

A enorme diferença existente entre os vitelinos em nosso material (muito reduzidos e unilaterais) e a referida por BRAUN (bilaterais e muito desenvolvidos) não permitiu logo que o identificassemos ao estudado por BRAUN.

Em uma das amostras que colecionamos tivemos a felicidade de encontrar exemplares que apresentavam lateralmente uma pigmentação escura que, em material não corado e diafanizado, se prestava a confusão com vitelinos. Esta pigmentação apresenta a mesma disposi-

1 Entregue para publicação a 21 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

ção representada por BRAUN como sendo os vitelinos, de maneira a permitir fosse cometido um êrro de interpretação.

Fig. 1 — *Lyperosomum rudectum* Braun, 1901. Aspeto total, segundo Braun, 1902, est. 7, fig. 69. Fig. 2 — *Athesmia rudecta* (Braun, 1901). Aspeto total, original.

Ainda para maior facilidade de confusão contribui o fato de ser o vitelino no gênero *Athesmia* encravado entre as alças do útero e só bem nítido em exemplares corados e diafanizados.

Dêste modo, julgamos demonstrado que o trematódeo descrito por BRAUN sob o nome de *Lyperosomum rudectum* corresponde a uma espécie do gênero *Athesmia*. Para maior clareza reproduzimos a figura de BRAUN e damos uma figura original na qual facilmente se vê a correspondência perfeita com exceção apenas da situação dos vitelinos, que não foram representados por BRAUN, por ter êste autor tomado a pigmentação das partes laterais do corpo como sendo êste orgão.

Fica dêste modo desfeito o equívoco, devendo o parasito em questão denominar-se *Athesmia rudecta* (Braun, 1901) n. comb.

BIBLIOGRAFIA

BRAUN, M., 1901, Zur Revision der Trematoden der Vogel. II. *Zbl. Bakt.*, Orig., 29: 941-948.
BRAUN, M., 1902, Fascioliden der Vogel. *Zool. Jahrb.*, 16: 1-162, ests. 1-8.
TRAVASSOS, L., 1919, Contribuição para a sistemática dos *Dicrocoelinae* Loose, 1899. *Arch. Esc. Sup. Agric. & Med. Vet.*, Rio de Janeiro, 3 (1-2): 7-24, figs. 1-14.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 87-93
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

MENTÓLISE BACTERIANA [1]

GENESIO PACHECO e GOBERT ARAUJO COSTA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Vários agentes podem produzir plamólise bacteriana: anticorpos; fermentos animais, vegetais e bacterianos, homólogos e heterólogos; substâncias químicas — álcalis, H^2O, H^2O^2; agentes físicos — calor, frio, pressões elevadas. Naturalmente não é idêntico o mecanismo de ação nem são idênticas as modificações impressas ao protoplasma bacteriano em consequência da atividade dêsses agentes líticos.

Levou-nos o estudo de entorpecentes sobre bactérias a verificar a existência de um novo agente químico dotado de ação lítica para bactérias, o mentol. Vimos então que certas espécies bacterianas eram lísadas por pequenas quantidades de mentol à temperatura ambiente. Assim, *Brucella suis, Vibrio comma, Pasteurella avicida* e um espiroqueta isolado de agua, foram visivelmente lísados, enquanto uma amostra de *coli* fecal humano, *Staphilococcus aureus, Proteus e Corynebacterium diphteriae* não se mostraram mentolísinosensiveis.

ESPÉCIES BACTERIANAS MENTOLISINOSENSIVEIS

Agora retomamos o assunto. De início procuramos comprovar a existência da lise pelo mentol seguindo a mesma técnica então proposta.

Empregamos nesta prova o *Vibrio comma, Staphilococcus* e mais bacilos disentérico e tífico, tendo observado lise em todos êles, exceto com bacilo tífico, como se vê no quadro I.

Confirmamos assim, ainda uma vez, a existência da lise bacteriana pelo mentol com todas as bactérias experimentadas nesta reverificação.

Não permitia a técnica primitiva obter concentrações mais fortes do agente lítico, isto é, aumentar o teôr de mentol da solução. Demais a solução feita por aquela técnica era imperfeita porque apenas parte do mentol permanecia dissolvido, separando-se com o repouso a parte

---

1 Recebido para publicação a 21 de Fevereiro de 1941.
Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz.

não dissolvida permanecente boiando à superfície da solução mentolada.

QUADRO I

Solução de mentol a 1/1.000	0,1cc.	0,2cc.	0,3cc.	0,4cc.	0,5cc.	0,6cc.	0,7cc.	0,8cc.	0,9cc.	1,0cc.	Test.
Vibrio comma N.º 167	T	T	T	T	T	T	T	L	L	L	T
Staphilococcus aureus N.º 403	T	T	T	T	T	T	T	L	L	L	T
Shigella parady-senteriae Flexner N.º 85	T	T	T	T	T	L	L	L	L	L	T
Tifo amostra H — 901	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Indicações: T = turvo, L = claro (lise)

Depois de vários ensaios conseguimos uma suspensão coloidal e dêsse modo obter o teôr de mentol realmente a 1/1.000. A suspensão obtida, agitada durante alguns minutos, permanecia então estavel e suficientemente translúcida para permitir verificação da existência da lise. Com esta solução preparamos diluições em série mediante junção de caldo de cultura. Experimentamos depois a lise adicionando 1 gota de caldo de cultura da bactéria a cada tubo com a diluição.

TÉCNICA PARA PREPARO DA SOLUÇÃO DE MENTOL — 0,10 gr. de mentol são dissolvidos em 5 cc. de álcool absoluto em balão esteril de 250 cc. Junta-se, em jato contínuo, 95 cc. de agua distilada esteril com uma pipeta de bola, procurando-se agitar o balão e fazer o escoamento da pipeta o mais rápido possivel.

Pelo quadro II vimos que foram lisados: *Corynebacterium pseudodiphtericum, Brucella melitensis, Shigella dysenteriae, Sh. paradysenteriae var.* Flexner, Hiss & Russel e Strong, *Streptococcus pneumoniae, Bacillus anthracis, B. subtilis;* não foram lisados: *Aerobacter aerogenes, Salmonella typhosa, S. Paratyphi, S. Schottmuelleri, Proteus, Shigella paradysenteriae var.* Sonne e Schmitz.

Encontram-se entre os germens lisados bactérias de gêneros bem afastados, incluindo-se bactérias Gram negativas e Gram positivas. Parece, pois, que a constituição do protoplasma tem pouca influência no fenômeno, admitindo-se como se admite a reação ao Gram ligada à constituição química do protoplasma bacteriano (KRUSE, DEUSSEM). De outro lado, bactérias de gêneros próximos, como do grupo coli-aerogenes e shigellas foram insensiveis ou não ao mentol, e amostras bacterianas da mesma espécie tambem assim se comportaram.

Algumas espécies, no entanto, se mostraram constantemente sensiveis *Vibrio comma,* ou sempre insensiveis *Proteus*.

Depende, talvez, a sensibilidade do mentol mais da amostra de bactéria que propriamente da espécie bacteriana.

QUADRO II

Suspensão mãe de mentol a 1/1.000	0,1cc.	0,2cc.	0,3cc.	0,4cc.	0,5cc.	0,6cc.	0,7cc.	0,8cc.	0,9cc.	1,0cc.	Test.
Corynebacterium pseudodiphtericum N.º 219	T	T	T	T	L	L	L	L	L	L	T
Brucella melitensis N.º 4	T	T	T	T	T	L	L	L	L	L	T
Shigella dysenteriae N.º 94	T	T	T	T	T	T	L	L	L	L	T
Streptococcus pneumoniae N.º 415	T	T	T	T	T	T	T	L	L	L	T
Shigella paradysenteriae Flexner N.º 87	T	T	T	T	T	T	T	L	L	L	T
Bacillus anthracis N.º 139	T	T	T	T	T	T	T	T	L	L	T
Shigella paradysenteriae Y N.º 98	T	T	T	T	T	T	T	T	L	L	T
Bacillus subtilis N.º 225	T	T	T	T	T	T	T	T	L	L	T
Shigella paradysenteriae var. Strong N.º 108	T	T	T	T	T	T	T	T	L	L	T
Salmonella schottmuelleri N.º 2947	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Salmonella paratyphi N.º 1015	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Aerobacter aerogenes N.º 428 II	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Proteus sp. N.º 481	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Shigella paradysenteriae Sonne N.º 91	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Shigella paradysenteriae Flexner N.º 87	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Salmonella tiphosa, amostra N.º 0 — 901	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Salmonella tiphosa, amostra Vi N.º 57	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

RELAÇÃO DAS AMOSTRAS EXPERIMENTADAS

Shigella paradysenteriae, var. Flexner. N.º 87 recebida do Dr. Astrogildo Machado em Abril de 1935.

Shigella paradysenteriae, var. Schmitz. N.º 99 isolada de disenteria humana em Agosto de 1930.

Shigella paradysenteriae, var. Flexner. N.º 91 (268, Sonne typo III, da N.C.T.C.

Proteus sp. N.º 481 — Isolado de fezes diarréicas em Outubro de 1938.

Aerobacter aerogenes, N.º 428 — Isolado de fezes em Abril de 1938.

Streptococcus equi, N.º 225 — Isolado de puz de garrotilho em Setembro de 1934.

Shigella paradysenteriae, var. Strong. N.º 108 — Isolado no Dept. Micr. Fac. de Med. de S. Paulo em Outubro de 1934.

Shigella paradysenteriae, var. Hiss. N.º 98 — Recebida do Instituto Bacteriológico de S. Paulo.

Bacillus anthracis, N.º 139 — Isolado de baço esfregado em lâmina recebido de Guaratinguetá, em 1933.

Shigella dysenteriae, N.º 94 — Recebida do Dr. Astrogildo Machado em Abril de 1935.

Brucella melitensis, N.º 4 — N.º da NCTC recebida em Janeiro de 1935.

Shigella paradysenteriae, var. Flexner. N.º 85 — Isolada em Março de 1937.

Staphilococcus albus, N.º 403 — Isolado de puz de fleimão de braço em Fevereiro de 1938.

Salmonella paratyphi — Recebida do Instituto Bacteriológico de S. Paulo em Maio de 1935.

Corynebacterium pseudodiphtericum, N.º 219 — N.º 231 da NCTC, sob nome Coryn. Hoffmann, Wellenhof. Recebida em Novembro de 1935.

Salmonella typhosa, 0-901 — Recebida do Instituto Roberto Koch.

Salmonella typhosa, H-901 — Recebida do Instituto Roberto Koch.

Salmonella paratyphi, 1015 — Recebida do Instituto Roberto Koch.

Salmonella schottmuelleri, 2949 — Recebida do Instituto Roberto Koch.

NOTA — Os números acompanhando o nome específico são da coleção do Instituto Oswaldo Cruz. Quando não ha indicação de origem da amostra foi ela isolada em nosso laboratório.

INFLUÊNCIA DA VITALIDADE BACTERIANA

Do ponto de vista biológico ha todo interesse em estabelecer relações de lise química com a lise por fermentos ou agentes líticos vivos. De referência ao bacteriófago verificou D'Herelle que êste só lisa bactérias vivas, permanecendo êsse agente lítico inativo em presença de bactérias mortas, qualquer que seja o agente bactericida.

Amostra de bacilo disentérico *Flexner* e de *Staphilococcus,* em suspensão contendo 300 milhões por cc. da escala de Mc Farland, vistas ambas bem sensiveis a ação lítica do mentol, foram divididas em duas porções cada uma: uma parte foi morta por aquecimento (BM. a 100°), durante 10 m. e outra ajuntada de formol a 1 %, depois adicionadas ambas de mentol. Resultado não houve lise. (quadro III).

QUADRO III

SUSPENSÕES BACTERIANAS MORTAS POR

(1) Calor

Suspensão de mentol a 1/1.000	0,1cc.	0,2cc.	0,3cc.	0,4cc.	0,5cc.	0,6cc.	0,7cc.	0,8cc.	0,9cc.	1,0cc.	Test.
Flexner N.º 85	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Staphilococcus N.º 403	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

(2) Formol

Flexner N.º 85	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Staphilococcus N.º 403	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Talvez dependesse a supressão da lise de uma coagulação da membrana ou do protoplasma bacteriano, consequente à ação dos agentes bactericidas empregados na experiência. Procuramos então matar as bactérias por meios menos violentos. Suspensão de culturas de 6 horas dos germens utilizados na experiência anterior foi tratada pelo eter, agitada alguns minutos e deixada 4 horas na estufa a 37° até evaporar o eter, em seguida ensaiada com mentol. Não houve lise (quadro IV).

QUADRO IV

Suspensão mãe de mentol a 1/1.000	0,1cc.	0,2cc.	0,3cc.	0,4cc.	0,5cc.	0,6cc.	0,7cc.	0,8cc.	0,9cc.	1,0cc.	Test.
Flexner N.º 85	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Staphilococcus N.º 403	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Restava ver si bactérias vivas, mas não em fase de reprodução, eram lisadas. Culturas em agar de bacilo Flexner, amostra 85, com 4 e 6 horas ou 12 dias de incubação a 37°, suspensas em agua fisiológica, foram lisadas igualmente. Culturas de 24 horas de *Bacillus anthracis* em caldo, não esporuladas, e suspensão de culturas de 8 dias em agar,

francamente esporuladas, foram postas em contato com mentol. Lisaram somente as bactérias não esporuladas.

ENSAIOS COM OUTROS TERPENOS ISOLADAMENTE OU ASSOCIADOS AO MENTOL

Experimentamos ação lítica tambem com cânfora, essência de hortelã, eucaliptol, utilizando a amostra Flexner 85, não tendo havido lise.

Nenhuma vantagem ou reforçamento a ação mentolítica houve com a associação da cânfora ao mentol como revela o quadro V.

QUADRO V

Suspensão de mentol mais cânfora a 1/1.000	0,1cc.	0,2cc.	0,3cc.	0,4cc.	0,5cc.	0,6cc.	0,7cc.	0,8cc.	0,9cc.	1,0cc.	Test.
Vibrio comma N.º 167	T	T	T	T	T	T	L	L	L	L	T

DISCUSSÃO

Desde muito a prática médica introduzira o mentol na terapêutica dos processos inflamatórios dos espaços cavitários das vias superiores onde as condições são sempre favoraveis a proliferações microbianas de elementos da flora normal ou patológica. Certo a introdução do mentol resultou do efeito anestésico conhecido dêsse terpeno mas desconheciase qualquer influência da droga sobre as bactérias. Entretanto êsse efeito devia ser previsto a vista dos resultados terapêuticos conseguidos, tanto assim que seu emprego não decaiu com o tempo.

Ensaios anteriores mostraram uma ação lítica sobre bactérias.

Para comodidade de expressão designamos a lise bacteriana pelo mentol por nós encontrada — *mentólise*.

Ficou a ação lítica do mentol bem estabelecida com a verificação de número maior de bactérias experimentadas. Delas decorre que ha gêneros bacterianos mentolíticos positivos ou negativos. Dentre as espécies bacterianas ha amostras ou especimens sensiveis ou insensiveis, não parecendo, pois, depender muito a sensibilidade da constituição protoplásmica. Encontram-se bactérias sensiveis dentre gêneros mais afastados uns dos outros. E' pois uma propriedade mais ou menos geral das bactérias.

Recentemente Zeeti, sem se referir a nosso trabalho, encontra uma ação impediente (bacteriostase), e bactericida do mentol sobre *Brucella suis*. Não percebeu que as duas propriedades dependiam da mentólise da *Brucella suis* que tinha sido vista por Pacheco e Pará em 1937. A impediência e a morte da *Brucella suis* depende certamente da lise bacteriana e a confirma indiretamente.

Uma condição foi essencial para a mentólise, a vitalidade da bactéria. Neste particular o fenômeno se aproxima da bacteriofagia de D'Herelle. Desta se distingue em muitos pontos, que serão examinados mais tarde, principalmente porque não se reproduz em série, como víramos anteriormente.

Seria análogo ao fenômeno observado com o pneumococo e a bile por Neufeld que tambem exige esta condição para se operar. Mesmo com bactérias mortas por processos pouco lesivos para o protoplasma, como pelo eter sulfúrico, a propriedade é suprimida.

Culturas vivas envelhecidas lisam tão bem como as culturas recentes. A esporulação suprime a lise.

RESUMO

1) O mentol lisa grande número de espécies bacterianas. Chamamos esta propriedade *mentólise*.
2) Ha gêneros bacterianos mentolisosensiveis e insensiveis; na mesma espécie ha especimens sensiveis ou insensiveis.
3) A morte da bactéria suprime a mentólise.
4) Outros terpenos, cânfora, eucaliptol, não lisam bactérias.

SUMMARY

1) Menthol effects the lysis of a great number of species of bacteria. We call this property *mentholysis*.
2) There are genera of bacteria which are sensitive and others non-sensitive; in the same species there are individual specimens which are sensitive or non-sensitive to mentholysis.
3) Death of the bacteria prevents mentholysis.
4) Other *terpenes*, camphor and eucalyptol, do not effect the lysis of bacteria.

BIBLIOGRAFIA

DEUSSEN, E., 1918, Die Gramsche Bakterienfärbung, ihre Wesen und ihre Bedeutung. *Z. Hyg., Infekt Kr.*, 85: 235.
D'HERELLE, F., 1926, *Bacteriophage and its behavior*, Willians & Wilkins Comp., Baltimore.
KRUSE, W., 1910, *Allgemeine microbiologie*. Leipzig.
NEUFELD, F., 1929, In Kolle & Wassermann, Handbuch d. Path. Mikroorg. 3ª Ed., vol. 4, parte 2.
PACHECO, G. & PARA', M., 1937, L'action Bactériolytique du Menthol. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 125: 1.009.
ZEETTI, R., 1939, Sull'azione del mentolo di fronte ai germi del grupo "Brucella". *Boll. Instit. Sier. Mil.* 18: 140.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 95-102
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LE MAINTIEN ET LA RÉSISTENCE DE REFLÈXES DE LA PRÉPARATION MOELLE-TRAIN POSTÉRIEUR DE LA GRENOUILLE [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 1 graphique)

Si l'on maintient la colonne vertébrale fermée, après avoir fait la préparation moelle isolée-train postérieur (1), les centres nerveux médullaires, pratiquement, ne reçoivent plus d'oxygène et n'éliminent plus l'anhydride carbonique produit. Dans ces conditions, les réflèxes résistent pendant quelque temps, mais cette résistance est, comme nous le montrerons, variable avec la température, le genre des Grenouilles et les conditions habituelles du milieu où elles vivent. Les premiers faits constatés dans nos recherches furent enrégistrés dans des notes antérieures, mais à cette époque nous n'avions pas encore trouvé des faits qui changent entièrement la manière de considérer les phénomènes. Il fallait donc faire des recherches systématiques pour bien mettre en évidence les points essentiels.

Nos recherches principales furent réalisées à Rio de Janeiro, sur le *Leptodactylus ocellatus*, notre Grenouille sud-américaine. L'un de nous a pu faire aussi une série d'expériences au Laboratoire de Physiologie des Sensations à la Sorbonne à Paris au mois de Mai de 1940, et il profite de cette occasion pour présenter ses plus vifs remercîments à Monsieur le Professeur Piéron et à son jeune assistant Chweitzer pour l'aide qu'ils lui ont prêtée. Il lui a été impossible de multiplier les expériences à Paris, tout d'abord à cause de la difficulté extrême de trouver un nombre assez grand de Grenouilles, étant données les circonstances, et, ensuite, parce que l'occupation de Paris par les Allemands rendrait impossible toute activité scientifique.

Pour le refroidissement de la moelle, nous employions le petit appareil qui nous sert pour les expériences d'épilepsie par refroidissement (2), le bain de Ringer où plonge la colonne vertébrale contenant

1 Reçu le 21 Fevrier 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.

la moelle, étant, pour chaque détermination, préalablement mis à la température voulue. La préparation étant rapidement faite, on examine l'état des réflèxes et on plonge la moelle dans le bain. Les réflèxes sont éxaminés de nouveau toutes les deux minutes, afin d'éviter la fatigue, mais on rapproche les examens vers la fin de l'expérience, de manière à avoir avec plus de précision le temps qu'ils durent. Nous nous sommes bornés, pour le moment, à l'étude des réflèxes produits par des excitants naturels: les pincements plus ou moins forts des doigts ou d'autres régions des pattes. Comme limite inférieure de température, nous avons choisi 10° pour les expériences faites à Rio de Janeiro; au-dessous de cette température, on est trop près des températures de production de l'attaque épileptiforme [2]. Pour les températures élevées, nous sommes allé jusqu'aux environs de 40°. Pour la série d'expériences faites à Paris, nous sommes descendus jusqu'à 0°, ce qui était parfaitement possible, étant donné que l'attaque épileptiforme chez les Grenouilles européennes ne se produit pas à des températures supérieures à 0° (4; 5).

Les transformations du régime des réflèxes sont tout-à-fait différentes pour les températures inférieures à une température moyenne, placée aux environs de 18 à 20°, de ce qu'elles se montrent pour les températures supérieures à celles-ci. Normalement, dans les préparations fraîches, le pincement des doigts produit le retrait du membre postérieur en flexion. La moelle étant soumise à une température au-dessous de la température moyenne, cette flexion est accompagnée de mouvements cloniques, comme nous l'avions signalé antérieurement (4; 6). Les réflèxes s'affaiblissent progressivement jusqu'à disparaître, en maintenant toujours ces caractères. Mais quand les réflèxes en flexion ne se produisent plus, les fortes excitations donnent lieu à des contractions cloniques partielles des muscles, incoordonnées et sans aucun effet mécanique de flexion ou d'extension des segments articulaires. Ces réactions peuvent persister pendant quelques minutes après la cessation des réflèxes en flexion.

La plupart des fois, après la disparition des réflèxes, si on installe la moelle dans un bain de Ringer à température plus élevée, les réflèxes reviennent et l'on observe même le réflèxe du saut que nous avons décrit dans une note précédente (7).

Au dessus de 18 à 20°, le caractère clonique du réflèxe en flexion ne se montre pas. Le réflèxe en flexion se produit pendant quelques minutes et, ensuite, il est remplacé par une réaction réflèxe en extension. Dans une période de transition, les excitations faibles donnent la flexion et les excitations plus fortes donnent l'extension. Mais la flexion que l'on observe dans cette période se présente avec certains caractères spéciaux. Normalement, parès la flexion, il y a un relâchement des muscles fléchisseurs avec retour à la position normale. Dans

---

2 Même à cette température de 10° il est possible d'obtenir des attaques épileptiformes réfléxes (3). Mais, en général, ces attaques ne se produisent que si les excitations sont répétées à tres court intervalle.

les conditions dont nous parlons ce retour est brusque et actif: il y a déjà intervention des extenseurs. Cette période de transition est d'autant plus courte que la température est plus élevée. Elle est remplacée aussitôt par une période de réactions en extension des deux pattes et cette extension peut avoir des caractères de grande intensité. Dans quelques cas, les deux formes de réaction — la flexion et l'extension — peuvent être séparées par un petit intervalle où il n'y a aucune réaction. Le réflèxe en extension s'affaiblit progressivement, plus ou moins vite, suivant les conditions de la température. Si celle-ci n'est pas trop élevée, on peut constater, après la disparition des réflèxes coordonnés, des réactions myocloniques comme pour le cas des températures basses. Après la disparition de tous les réflèxes produits par pincement, on peut souvent observer le réflèxe du saut. Une fois disparûs les réflèxes, ils ne reviennent plus si on place la moelle dans des conditions différentes de température; ils sont vraiment épuisés.

Cette description que nous venons de faire s'applique à la généralité des cas, avec des variations des durées respectives des différentes périodes. Sans pouvoir l'affirmer d'une manière définitive, puisque pour cela il faudrait réaliser des recherches spécialement destinées à ce point, il nous semble que la température à laquelle il se produit le renversement des réactions réflèxes est influencé par l'époque de l'année. Dans la saison fraîche elle se trouve plus basse. Cette question, ainsi que celle de l'influence du facteur température sur le rapport entre la période de la flexion et celle de l'extension dans chaque cas donné, sera l'objet de recherches ultérieures.

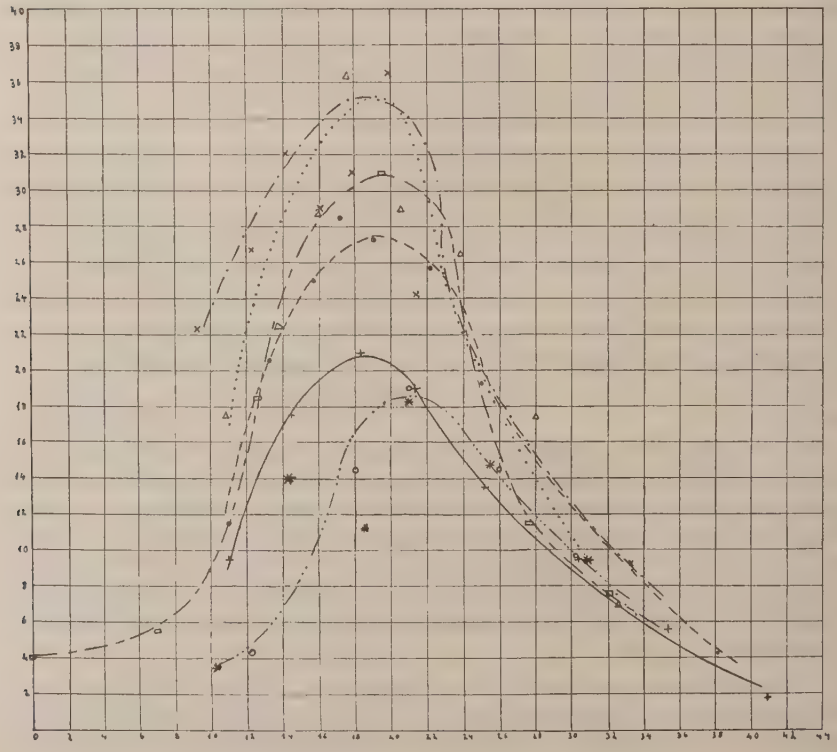
Les altérations des réflèxes suivant les conditions de la température, rendent difficile la question de savoir quel est le temps de maintien des réflèxes dans la préparation de la moelle isolée. Quel critérium pouvons-nous adopter? Nous avons pris, pour des raisons que nous ne pouvons pas développer ici, le critérium suivant: nous mesurons le temps pendant lequel la moelle réagit par des réflèxes coordonnés aux excitations extérieures, qu'elles soient, les réactions, en flexion ou en extension; nous ne comptons pas la période pendant laquelle on peut encore obtenir des contractions élémentaires, isolées et sans coordination.

En adoptant ce critérium, les résultats expérimentaux sont très nets et caractéristiques. Si l'on fait une courbe, en prenant les températures pour abcisses et les durées des réflèxes coordonnés pour ordonnées, on obtient des graphiques comme ceux de la figure ci-jointe. On voit que ces courbes sont assez régulières. Chacune d'elles présente une partie ascendante, passe par un maximum et descend ensuite quand la température de la moelle dépasse un niveau placé aux environs de 18 à 20°.

Nous n'avons pas figuré dans le graphique ci-joint toutes les courbes obtenues dans nos recherches; il en résulterait une figure trop enchevêtrée. Nous avons choisi quelques courbes représentant des séries

d'expériences faites à des époques diverses de l'année. Ainsi, en allant de bas en haut, on peut voir les courbes suivantes.

Une prémière, constituée par de petits traits séparés par trois points (—...—...) représente les résultats d'une série faite le 14 Février 1941, à une époque excepcionnellement chaude à Rio de Janeiro et après plus d'une semaine de journées où le thermomètre montait toujours au laboratoire aux environs de 34 et 35°. Le jour de l'expérience, le thermomètre sec donnait, au début à 11h,30, une température de 32°,3, et à la fin, à 19 heures, 31°. La température d'un flacon ouvert contenant une solution de Ringer fut, respectivement, 30°,8 et 29°. Pour chaque température du bain où était plongée la moelle, on faisait ce jour-là, deux expériences, une avec une Grenouille dont le poids était d'environ 40 grammes et l'autre dont le poids était beaucoup plus petit, aux environs de 20 grs. Nous voulions vérifier si la taille de l'animal a une influence quelconque sur les résultats. Les points expérimentaux relatifs aux Grenouilles de taille plus grande sont figurés par une petite étoile; ceux relatifs aux petites Grenouilles par un petit cercle. On voit que la taille des animaux n'a pas d'influence sensible sur les résultats.



La courbe qui vient immédiatement au-dessus, au trait plein, avec les points expérimentaux figurés par une petite croix droite (+) représente les résultats d'une série de déterminations faites le 25 Janvier 1939. La température du laboratoire était de 28°.

La troisième courbe, en traits petits et réguliers (— — —), les résultats étant représentés par de petits cercles noirs, résulte d'une série faite le 24 Abril 1939 à Rio, la température du laboratoire étant 24°,3.

La quatrième courbe, constituée par des traits longs et des traits petits alternés, résume les résultats de la série d'expériences faites à Paris le 17 Mai 1940. On remarquera les déterminations faites jusqu'à 0°, étant donnée l'absence de l'attaque épileptiforme. Les points expérimentaux sont figurés par de petits rectangles.

Nous avons tracé deux autres courbes obtenues pendant l'époque fraîche à Rio: l'une (aux traits intercallés par des points isolés), le 13 Juin 1939 (température du laboratoire: 22°), et l'autre, (la ligne pointillée), le 31 Août 1939 (température du laboratoire: 24°,2).

On voit, par l'ensemble de ces courbes, que l'allure générale des phénomènes est toujours la même: la durée de résistance des réflèxes est une fonction de la température de la moelle, à partir du moment où tous les échanges respiratoires ont été supprimés. Il y a un optimum de température aux environs de 18 à 20°; d'un côté et de l'autre de cet optimum, qui correspond au maximum de durée, les temps de survivance diminuent rapidement.

Remarquons, en passant, que la branche droite de la courbe, correspondante aux températures supérieures à l'optimum, nous semble parfaitement naturelle et prévisible. On peut penser que les réflèxes disparaissent quand les niveaux de l'oxygène consommé ou de l'anhydride carbonique produit, résultants des échanges respiratoires, atteignent des hauteurs déterminées. Or, ces échanges sont d'autant plus réduits que la température des centres nerveux est plus basse. De là on peut déduire que, en partant des températures élevées, la courbe des durées des réflèxes doit remonter. Mais l'explication cèsse d'être valable, étant donnée l'existence de l'optimum et de la branche gauche de la courbe. Celà pose des problèmes qui font l'objet de nouvelles recherches et que nous exposerons dans des travaux ultérieurs.

Étant donnée la forme générale de la courbe, nos résultats montrent aussi une influence nette de l'époque de l'année, donc de la température ambiante sur la durée des réflèxes. Le parallélisme entre les deux ordres de phénomènes est évident. Dans le tableau suivant nous donnons les dates des expériences, les températures du laboratoire pour chacune d'elles, la durée maxima observée dans chaque série et, enfin, la température du bain où se trouvait plongée la moelle pour laquelle il y a eu cette durée maxima. Nous faisons figurer les expériences qui

sont représentées dans le graphique et les autres qui ne s'y trouvent pas

Date	*Température du laboratoire*	*Temps de résistance des réflèxes*	*Température du bain*
14-VI-39	21°	34',15"	20°,7
13-VI-39	22°	36',30"	19°,8
2-VIII-39	22°,3	36',15"	21°
3-VIII-39	22°,6	35',15"	22°,1
19-VI-39	23°,5	37'	19°,3
31-VIII-39	24°,2	36',15"	17°,5
4-X-39	24°,3	24'	17°,3
24-IV-39	24°,3	28',30"	17°,2
30-VIII-39	25°	34',15"	19°,8
17-IV-39	26°	25',30"	16°,3
23-I-39	28°	18',30"	20°,4
25-I-39	28°	21'	18°,3
15-IV-39	28°,5	24'	16°,5
4-XI-39	28°.6	29',30"	16°,4
24-I-39	29°,3	22',30"	22°,5
14-II-41	32°,3	18',15"	21°

Nous ne prétendons, en donnant ce tableau, que montrer le sens général des phénomènes. En effet, il faudra faire dans les températures voisines du maximum, des déterminations beaucoup plus proches les unes des autres, pour pouvoir savoir avec plus de précision, non seulement à quelle température correspond en réalité le maximum, comme aussi quelle est la durée des réflèxes pour cette température optima.

L'examen des courbes du graphique nous auctorise aussi à mettre en relief un autre fait: l'influence de l'époque de l'année et de la température ambiante se fait sentir surtout sur la hauteur du maximum et sur la position de la branche placée à gauche dans la courbe, correspondante aux températures inférieures à la température optima. Les écarts entre les courbes sont beaucoup plus réduits pour les températures élevées et la région occupée par les différentes courbes s'amincit de plus en plus, à mesure que la température du bain monte. Nous retrouverons ces faits dans des travaux ultérieurs, à propos de l'étude de l'action de certains facteurs.

RESUMÉ ET CONCLUSIONS

1. La préparation moelle isolée-train postérieur de la Grenouille nous permet d'étudier dans des conditions particulièrement favorables le régime des réflèxes médullaires en fonction de la température des centres nerveux. En effet, on peut limiter l'action de la température seulement aux centres, en laissant toujours dans des conditions identiques et invariables les muscles et les nerfs.

2. Le régime des réflèxes médullaires est tout-à-fait différent au-dessous et au-dessus d'une température moyenne placée aux environs de 18° à 20°. Dans les températures basses, les réflèxes se font toujours en flexion du membre inférieur et présentent des phénomènes cloniques simultanés. Dans les températures élevées, le réflèxe en flexion est remplacé, au bout d'un certain temps, par des réflèxes en extension.

3. Le temps de résistance des réflèxes (durée totale), est une fonction de la température de la moelle. Ce temps croît rapidement avec la température jusq'à un maximum qui correspond à une température optima et diminue ensuite rapidement pour les températures de plus en plus élévées.

4. Les courbes qui représentent les durées des réflèxes en fonction de la température, tout en conservant la même forme générale et la même allure, ne sont pas les mêmes pour toutes les expériences. On remarque une influence nette de l'époque de l'année et de la température ambiante. Cette influence se fait sentir sur le maximum qui, d'une manière approchée, est d'autant plus élevé qu'il fait plus froid (dans les conditions de climat et les limites de température de Rio de Janeiro), et sur la partie de la courbe correspondante aux températures au-dessous de l'optimum. La branche droite, qui représente les phénomènes qui se produisent dans les températures élevées, présente des écarts beaucoup moins considérables quand on passe d'une courbe à l'autre.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. A preparação medula isolada-trem posterior da Rã permite-nos estudar em condições particularmente favoraveis o regimen dos reflexos medulares em função da temperatura dos centros nervosos. De fato, é possivel limitar a ação da temperatura somente aos centros, deixando sempre em condições idênticas e invariaveis os músculos e os nervos.

2. O regimen dos reflexos medulares é de todo diferente abaixo e acima de uma temperatura média colocada nas visinhanças de 18 a 20°. Nas temperaturas baixas, fazem-se sempre os reflexos em flexão do membro inferior e apresentam simultaneamente fenômenos clonicos. Nas temperaturas elevadas, o reflexo em flexão é substituido, ao fim de um certo tempo, pelos reflexos em extensão.

3. O tempo de resistência dos reflexos (duração total) é uma função da temperatura da medula. Cresce êsse tempo rapidamente com a temperatura até um máximo que corresponde a uma temperatura ótima e diminue em seguida rapidamente para as temperaturas cada vez mais elevadas.

4. As curvas que representam as durações dos reflexos em função da temperatura, conservando a mesma forma geral e o mesmo aspecto, não são as mesmas para todas as experiências. E' de notar uma influência nítida da época do ano e da temperatura ambiente. Faz-se essa influência sentir sobre o máximo que, de modo aproximado, é tanto mais elevado quanto mais frio faz (nas condições de clima e limites de temperatura do Rio de Janeiro), e sobre a parte da curva correspondente às temperaturas abaixo do ótimo. O ramo direito da

curva, que representa os fenômenos que se produzem nas temperaturas elevadas, apresenta afastamentos muito menos consideraveis quando se passa de uma curva para outra.

BIBLIOGRAPHIE

1. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938. Quelques préparations de système nerveux isolé employées en Physiologie et Pharmacodynamie. *In* Livro Jubilar do Professor Lauro Travassos, Rio de Janeiro, pgs. 359-365.
2. OZORIO DE ALMEIDA, M. & VIANNA DIAS, M., 1934. Observations expériences sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 116: 1150-1152.
3. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938. Influence des excitations réflexes sur l'attaque épileptiforme de la Grenouille sud-américaine due au refroidissement brusque de la moelle épinière. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 127: 710-712.
4. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1937. Action du refroidissement brusque de la moelle isolée chez la Grenouille européenne. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 126: 196-198.
5. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1939. Sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière chez la Grenouille européenne. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 132: 233-235.
6. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938. Action du refroidissement de la moelle épinière sur les réflexes de la Grenouille sud-américaine. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 127: 707-710.
7. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1940. Sur le réflexe du saut chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 133: 713-716.

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 103-109
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO "EACLES" HUBNER, 1819 (Lepidoptera, Adelocephalidæ) [1]

JOSÉ OITICICA FILHO
Colégio Universitário, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 9 figuras no texto)

Eacles guinlei n. sp.

Nome dado em homenagem à família GUINLE e em particular ao Dr. CARLOS GUINLE cujas facilidades proporcionadas a mim e aos meus companheiros de excursão permitiram colecionássemos abundante material em Terezópolis.

Proveniência, Terezópolis, no Estado do Rio, 900 metros de altitude, capturada por Lauro Travassos e José Oiticica Filho.

Holotipo, macho, n. 223 na minha coleção. Preparações sob o mesmo número em tubos com creosoto. Vários paratipos na minha coleção e na do Instituto Oswaldo Cruz.

Alotipo, fêmea, n. 225 na minha coleção e um paratipo n. 304 tambem na mesma coleção.

Desenhos do autor. *Fotografias* de M. Ventel, Inst. Oswaldo Cruz

DESCRIÇÃO DO HOLOTIPO (Fig. 1)

Antenas, com a côr 246 (terra ocre) do Código de Séguy, 1936. Flagelo direito com 18 segmentos quadripectinados e 21 simples. Cones sensitivos, em todos os segmentos simples, exceto o segmento apical. Cones duplos nos segmentos 1 e 2 a partir do apice, os outros simples.

Palpos labiais côr 111 (castanho).

Região da cabeça côr 213 (ocre amarelo).

Protorax amarelo 213, *mesotorax* incluindo as tégulas côr 111. *Metatorax* côr 111 com uma mancha central côr amarela 213.

Asas anteriores falcadas como em *Eacles acuta* Schaus, 1905.

Face superior das asas como no esquema da fig. 3.

Regiões a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6, côr castanho 111, esta côr mais clara em a_3 e a_4 Regiões b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6, côr amarela 213. Na região a_1 laivos da côr 213. A côr de a_6, não toca a estria 5, deixando de permeio a região b_6 amarela 213 em forma de estria. Região b_1, muito estreita, quasi indistinta, parecendo um ponto amarelo. Região c violácea escura, côr 120 do Código. Estrias 1 e 2 quasi invisiveis, côr 111, um pouco escurecida. Estria 3 um pouco lunulada na

1 Recebido para publicação a 26 de Fevereiro de 1941.

parte interna, perto do ápice da asa; a sua côr um pouco mais escura do que a côr 111, côr 146 (*bistre-foncé*).

Estria 4, côr 111, mal definida. Estria 5 lunulada para o bordo costal, com as lúnulas mal definidas para o bordo anal e com a côr 111. Ocelos da asa anterior na região b_2 (na célula).

Ocelos desiguais, côr 146, *vislumbrando-se* no ocelo maior um centro mais claro. Ocelo unico na asa posterior, com a mesma cor 146 e com vislumbres de um centro mais claro. Salpicos de côr 116 (pardo escuro) em todas as regiões da face superior, exceto em a_5 e muito escassas em a_6 e b_5. Face inferior das

Eacles guinlet n. sp. — Fig. 1 — Fotografia do holotipo macho; fig. 2 — Fotografia do alotipo fêmea.

asas com a côr geral amarelo ocre 213, desaparecendo as estrias 1, 2 e 4 e portanto as regiões b_1, a_1, a_2, a_4, a_5. Assim temos uma única região, amarelo 213, formada pelas regiões b_1, a_1, a_2, b_2, b_3; outra de mesma côr resultante de a_4 e b_4; outra de mesma côr resultante de a_5 e b_5; a região b_6 mais larga para o bordo anal. Só subsistem portanto as regiões a_3, c, a_6, as estrias 3 e 5 mais fortemente lunuladas e os ocelos como na face superior. Salpicos mais nítidos que na face superior, inexistentes ainda na região da asa posterior que corresponde à região a_5 da face superior. Esta região tem uns laivos róseos sobre a côr 213, amarela, que domina a região

Comprimento máximo de cada asa anterior, medida do torax ao apice, ao longo do bordo costal, igual a 5,5 centímetros.

Envergadura de ápice a ápice, nas asas anteriores, igual a 11 centímetros.

Pernas com os fêmures de côr amarelo 213, tíbias e tarsos côr 111. Morfologia do tipo geral do gênero e os segmentos com as medidas do quadro abaixo, em milímetros; pernas do lado direito.

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	7,10	7,95	7,45
Tíbia	5,60	5,45 $\begin{cases} e_1 = 0,75 \\ e_2 = 0,80 \end{cases}$	6,10 $\begin{cases} e_1 = 0,75 \\ e_2 = 0,90 \end{cases}$
Tarsômeros 1	2,70	3,35	4,30
2	1,25	1,50	1,80
3	0,95	1,15	1,30
4	0,75	0,90	1,00
5	1,65	1,70	1,60

Epifise da perna anterior com 2,5 mm., com a sua inserção a 1,5 mm. do bordo femural da tíbia. Esporão das tíbias abreviados e_1, e_2 no quadro.

Abdomem pela face dorsal com aneis largos de côr 111 alternados com aneis estreitos amarelos 213, apresentando pontos centrais amarelos 213 dando a impressão de uma faixa dorsal interrompida.

Tergum, do segmento 8, côr 111 com franjas amarelo 213. Face pleural amarelo 213 com os estigmas respiratórios coloridos com a côr 111. Face ventral amarelo 213, exceto o *sternum* 8 cuja côr é, como no *tergum* correspondente, a côr 111, franjas amarelo 213.

Genitália com o aspeto geral das genitálias do grupo de *E. imperialis* (Drury, 1770). A fig. 5 dá o aspeto geral da genitália do holotipo numa vista lateral.

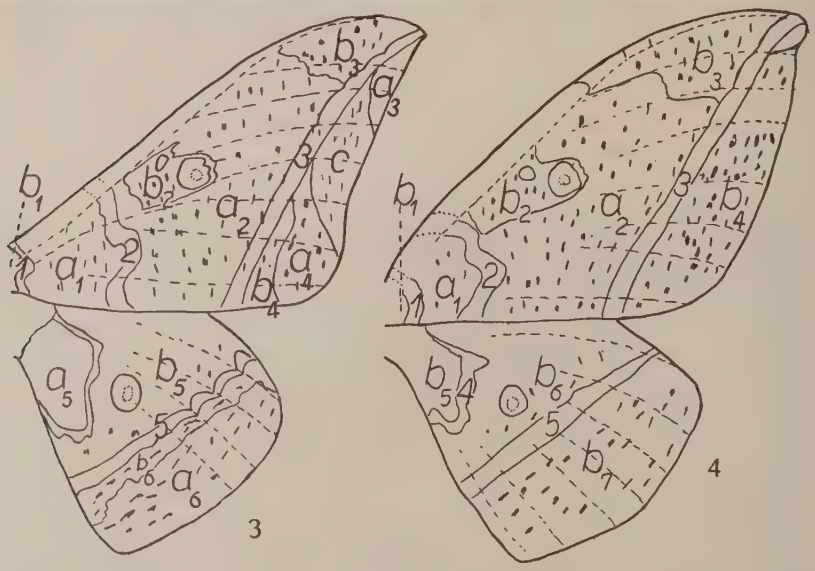
Apresenta particularidades que a diferenciam das espécies próximas na harpa (h) da valva, na forma da própria *valva,* no apêndice (as_{10}) do *esternum* 10 e no *tergum* (t_{10}) do décimo segmento. Na fig. 7, vemos claramente o aspeto interno da valva esquerda, no qual aparece a forma da harpa (h.).

Variações

Pequenas são as variações externas achadas em exemplares machos.

Única variação digna de nota é na coloração das regiões *a,* que no holotipo é castanho 111 e que em alguns paratipos chega a ser castanho-avermelhado

102. Este castanho das regiões *a* varia desde a côr 102, toma a côr do castanho 126 no alotipo fêmea e torna-se escuro até o 111 do alotipo macho.



Eacles guinlei n. sp. — Fig. 3 — Esquema dos desenhos da asa do ♂; fig. 4 — Esquema dos desenhos da asa da ♀.

DESCRIÇÃO DO ALOTIPO (Fig. 2)

Alotipo fêmea n. 225 na minha coleção. Preparações sob o mesmo número em tubo com creosoto. Dois exemplares únicos na minha coleção, o alotipo e um paratipo sob o n. 304, ambos com a mesma proveniência do macho.

Antenas com a côr 246 (terra ocre). Flagelo direito com 40 segmentos não pectinados, os 17 primeiros a partir da base sem cones sensitivos e os 22 seguintes possuindo êstes cones; o segmento do ápice sem cone. Todos os cones sensitivos simples.

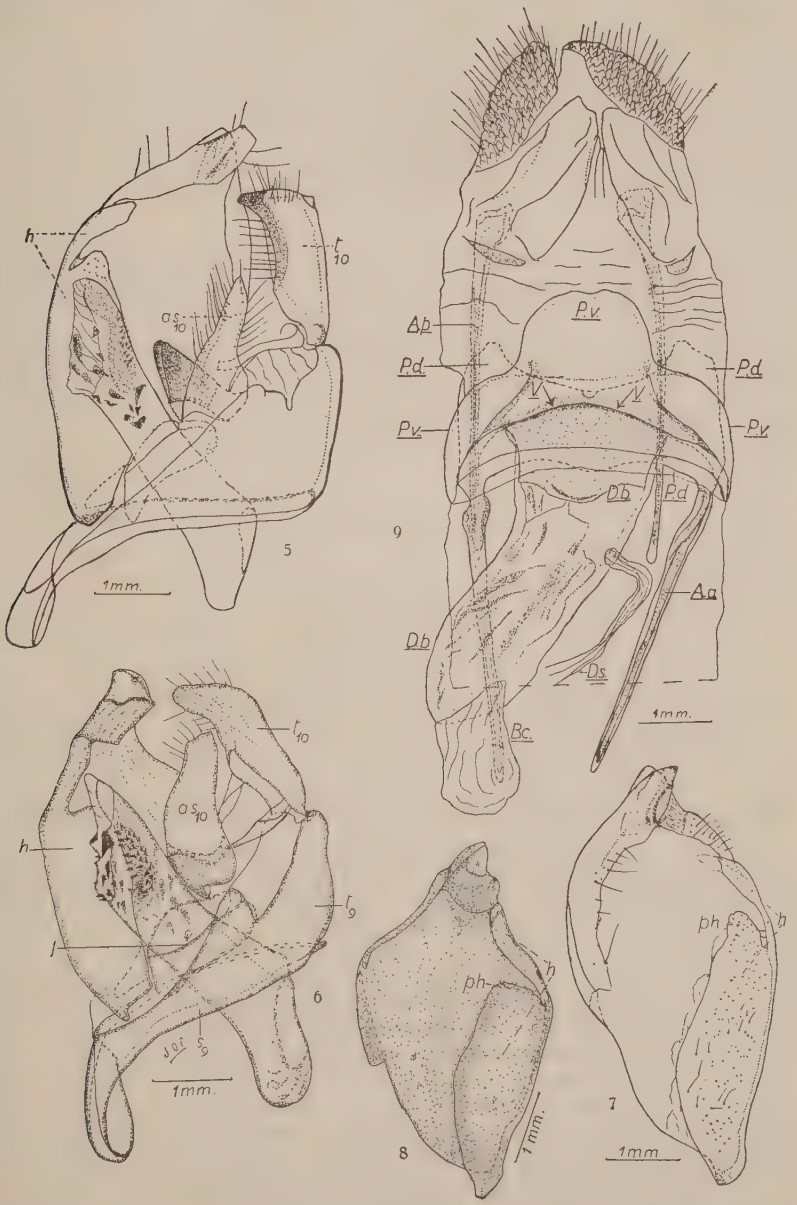
Palpos labiais côr 126 (palissandre).

Região da cabeça côr 226 (amarelo cádmio).

Protorax castanho 126, *mesotorax* incluindo as tégulas côr 126, tégulas franjadas interiormente de amarelo 226 deixando aparecer assim, no mesotorax, um triângulo central de côr 126. *Metatorax* amarelo 226 com duas manchas laterais côr 126 e uma mancha posterior da mesma côr, ligando as duas laterais.

Asas anteriores com os bordos bem convexos, caso geral nas fêmeas do grupo. Face superior das asas com desenhos muito semelhantes aos do macho, como no esquema da fig. 4. Regiões marcadas *a* côr 126 e marcadas *b* côr 226. Região a_1 com laivos do amarelo 226. Região b_4 substitui as regiões a_3, c, a_4, b_4, do macho. Região b_5 substitui a região a_5 do macho, porém com laivos da côr 126. Região b_7 em lugar das regiões a_6 e b_6 do macho. Estrias com a côr 126, porém, com um tom violáceo. Estrias 1 e 2 e 4 mais nítidas do que no macho Ocelos das asas côr das estrias, com um centro claro, *quasi invisivel*. Salpicos com a côr 116 (pardo escuro) mais nítidos do que no macho, em quasi todas as regiões das asas, escassas em b_6 e inexistentes em b_5, como no macho. Face inferior das asas com a côr geral amarelo cádmio 226. Estrias 1, 2, 4 desapa-

recem. As regiões b_1, a_1, a_2, b_2, b_3, transformam-se numa única região grande, amarelo 226 com laivos róseos para a parte apical. Região b_4 conservada.



Eacles guinlei n. sp. — Fig. 5 — Genitalia do ♂; fig. 7 — Valva; fig. 9 — Genitalia da ♀. *Eacles tyrannus* Draudt, 1930 — Fig. 6 — Genitalia do ♂, proveniente de Goiás; fig. 8 — Valva.

Regiões b_5 e b_2 reunidas numa única amarela 226 com laivos róseos. Região b_7 subsistente.

Estria 3 fortemente lunulada no ápice e muito larga, afinando rapidamente para o bordo anal, com uma largura de 5 mm. no ápice passa a 1 mm. no bordo anal. Estria 5 larga (5 mm.) no bordo costal e mais estreita no anal (2, 5 mm.), bem lunulada. Salpicos com a côr 116 nas regiões (correspondentes às da face superior) a_2, b_3, b_4 (exceto na parte anal e em toda a região da célula), nas regiões b_6, b_7 (em b_6 muito fortes, ao contrário da face superior). A região b_5, ainda sem salpicos.

Comprimento máximo da asa anterior, medida do torax ao ápice, ao longo do bordo costal, igual a 6,8 cm. Envergadura de ápice a ápice nas asas anteriores igual a 12,5 cm.

Pernas com os fêmures amarelos côr 226, tíbias e tarsos palissandro 126. Morfologia do tipo geral, tendo os tarsômeros 4, do primeiro par, a forma e os dois espinhos característicos das fêmeas. Medidas dos diversos segmentos, em milímetros, pernas do lado direito, no quadro abaixo:

	P. anterior	*P. média*	*P. posterior*
Femur	7,25	8,50	8,10
Tíbia	5,20	5,70 $\begin{cases} e_1 = 0,75 \\ e_2 = 0,80 \end{cases}$	6,60 $\begin{cases} e_1 = 0,95 \\ e_2 = 0,85 \end{cases}$
Tarsômeros 1	3,00	3,15	3,85
2	1,40	1,50	1,80
3	1,10	1,25	1,43
4	0,90 (+ 0,2)	0,95	1,10
5	2,20	1,85	0,85

Epífise da perna anterior curta, 1,15 mm. com a sua inserção a 2 mm. do bordo femural da tíbia. Esporões das tíbias abreviados e_1, e_2 no quadro. O número 0,2 adicionado a 0,9 no tarsômetro 4 da perna anterior, é a medida, em mm., de cada espinho dêste tarsômero feminino.

Abdomem pela face dorsal, como no macho, com aneis largos côr 126 alternados com aneis estreitos amarelos 226, com partes centrais amarelo 226, dando a impressão de uma faixa central interrompida. Face pleural amarelo 226, com os estigmas respiratórios côr 126. Face ventral toda amarela, côr 226.

Genitália (fig. 9) do tipo geral de *E. magnifica* Walker, 1855. *Bursa copulatrix* (*B. c.*) muito pequena e afastada da *vulva* (V.) por um *ductus bursae* largo e com cerca de 4,8 mm. de comprimento. *Ductus bursae* (*D. c.*) muito quitinizado próximo da *vulva* e com placas de quitina, sem forma definida, em todo o seu comprimento. *Ductus seminalis* (*D. s.*) saindo do *ductus bursae* (*D. b.*) próximo da vulva cerca de 1,65 mm., portanto a 1/3 do comprimento do *ductus bursae*. *Vulva* muito larga, sua abertura ocupando quasi toda a largura da *placa vulvar* (*P. v.*). *Placa vulvar* (esternito do oitavo *sternum*) com o aspeto da figura, na qual aparece tambem, o aspeto da *placa dorsal* (*P. d.*).

Apófises anteriores com aproximadamente 4 mm., presas à placa dorsal. *Apófises posteriores* (*A. p.*) com um comprimento médio de 4,5 mm., presa ao dorso da membrana do segmento 9 + 10.

DISCUSSÃO DA ESPÉCIE

Discuto sucintamente a espécie, para o macho, deixando para mais tarde, com maior conhecimento das outras espécies e mais material disponivel, uma discussão mais aprofundada. Espécie muito semelhante externamente a *Eacles tyrannus* Draudt, 1930. A figura colorida do macho de *E. tyrannus* aparece em Seitz Grosschmeterling der Erde, *6*, t. 133 c.

A primeira diferença externa que logo salta aos olhos entre a presente espécie e *E. tyrannus* está na forma das asas anteriores, *mais falcadas e estreitas* em *E. guinlei* do que em *E. tyrannus* Esta diferença notei logo ao comparar exemplares de *E. guinlei* com dois exemplares de *E. tyrannus,* um da coleção MAY (do Amazonas) e outro do Museu Paulista (de Goiás), exemplares gentilmente cedidos para estudo. No estudo das genitálias as diferenças foram grandes. Dou no quadro abaixo uma discussão comparativa, com o exemplar de *E. tyrannus* de Goiás.

E. tyrannus	*E. guinlei*
Asas anteriores com uma certa forma, como na figura de Seitz; *6;* t. 133 c.	Asas anteriores com outra forma, mais *estreitas* e *falcadas* (fig. 1).
Região a_5 *toca* a estria 5, que é mais larga no bordo anal, ficando a região b_5 muito pequena.	Região a_5 *não toca* a estria 5. Estria 5 estreita em todo o seu comprimento, região b_5 bem maior.
Ocelos das asas com centro claro bem nítido.	Ocelos das asas com centro claro mal definido, inexistente às vezes.
Valvas com uma certa forma (fig. 8) curtas e pequenas relativamente a *guinlei* (*imagos de mesma envergadura*); suas pontas truncadas.	Valvas com outra forma (fig. 7), muito mais longas e maiores; pontas afiadas (em garra) como em *E. magnifica.*
Harpa com uma certa forma (fig. 8) curtas e de mesma largura; sua ponta (ph) em ângulo reto com o bordo da valva.	Harpa com outra forma (fig. 7), compridas e afinando para a sua ponta; esta ponta (ph) digitiforme.
Apêndices do décimo sternum (as) com uma certa forma (fig. 6).	O mesmo apêndice com outra forma (fig. 5).

BIBLIOGRAFIA

DRAUDT, M., 1930, *In* Seitz, Grosschmeterling der Erde, *6* t. 133 c.
SEGUY, E., 1936, *Code Universel des Couleurs.*

Rev. Brasil. Biol., 1 (1): 111-116
Abril, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTICIAS E COMENTARIOS

REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

Inicia-se com este número a publicação de mais uma revista especializada no Brasil, que se destina a servir aos numerosos biologistas cujas atividades se concentram na pesquisa científica nos varios ramos em que se divide a Ciencia da Vida.

O estado atual das relações entre os homens dificultou e, em alguns casos, impediu que continuassem as comunicações entre a America e a Europa e, assim, a Sociedade de Biología do Brasil, filiada à "Societé de Biologie de Paris" e cujos trabalhos eram publicados nos "Comptes Rendus", viu-se impossibilitada de divulgar os assuntos apresentados em sessão por seus associados.

Daí a idéia desta Revista que, já então, poderia tomar o aspeto com que se apresenta, aceitando colaboração estranha ao quadro associativo da Sociedade de Biología do Brasil.

Ao mesmo tempo, a Sociedade tratou de incluir os biologistas do Brasil em sua organisação, procurando estimular a criação de novas seções nos varios Estados da União que se filiariam ao organismo central, do qual a *Revista Brasileira de Biología* é o orgão oficial.

Entretanto, não são reduzidas as dificuldades que se apresentam a uma obra deste tipo, cujos fundamentos foram lançados pela atual diretoria da Sociedade de Biología do Brasil, que viu seus esforços e sua solicitação compreendidos por um grupo selecionado de pesquisadores e teve o apoio material indispensavel de um homem que já se tornou credor da gratidão dos que se dedicam à Ciencia no Brasil, o Dr. Guilherme Guinle, cujo nome a *Revista Brasileira de Biología* ostenta com orgulho em sua capa.

Na data em que damos a publicidade este número que, como todos os outros, é regulamentado pelas indicações constantes nas 2.ª e 3.ª capas desta edição, a Sociedade de Biología do Brasil é constituida pelas seções do Rio de Janeiro, D. F. e Belo Horizonte.

ADOLPHO LUTZ (18-12-1855 — 6-10-1940)

Foi A. Lutz uma impressionante individualidade, uma das figuras mais perfeitas de sábio e um grande exemplo de dedicação ao estudo.

Nascido no Rio de Janeiro, ainda na infancia foi transferido para a patria de seus Pais, a Suiça, onde fez sua formação cultural. Na Universidade de Berna

completou seus estudos universitários, aperfeiçoados pela visita aos centros de estudos médicos mais importantes da época.

Formou-se em Medicina mas, desde logo, seu pendôr de zoólogo se manifestou. Antes do doutoramento, aos 23 anos de idade, aparecia sua primeira publicação de zoologia: *Ueber Cladoceren der Umgegend von Bérn, 1878.*

Tendo madrugado nos estudos nunca parou, nêles se prolongando até muito tarde; produziu durante 62 anos, com o mesmo ardôr.

Doutorando-se em 1880, aos 25 anos, volta à Pátria e revalida seu diploma de medico, iniciando a luta pela vida como clinico.

Pesquizou molestias que eram então mal conhecidas, principalmente aquelas do setôr das parasitoses. Tornou-se bacteriologista consumado, micologista, helmintologista. As molestias do homem e dos animais e seus agentes e vetôres, tiveram do jovem Lutz, todas as atenções. Da lepra foi Lutz um dos pesquisadores que estabeleceram os alicerces dos atuais conhecimentos, do agente e das lesões.

Quem se der ao trabalho de estudar o ambiente cultural de nosso país na época da primeira década da carreira de Lutz poderá avaliar o que representou em esforço e tenacidade na luta contra a pouca compreensão do meio, da falta de bibliografia e na destruição dos "tabús" cultivados pela ignorancia.

Graças a sua bôa formação medica poude evidenciar a febre tifoide escondida sob falsos rótulos e estudar de uma maneira absolutamente magistral a opilação.

A monografia publicada em 1888 sôbre *"A opilação ou hypoemia intertropical"* que compendia publicações e estudos feitos desde 1885, é uma obra cuja leitura ainda hoje entusiasma e onde tudo foi observado e estudado, constituindo um dos trabalhos mais notáveis da literatura medica brasileira.

Estes tão notaveis estudos, realiza-os antes dos 35 anos em um meio sem ambiente cultural.

Simultaneamente com a opilação estudava helmintos dos animais domesticos e do homem, dermatoses, e principalmente lepra.

As suas qualidades de zoólogo nato o conduziram para a helmintologia, sendo entre nós um dos pioneiros destes estudos, não sómente verificando os nossos helmintos parasitas como procurando elucidar suas complexas evoluções. Foi tambem um dos iniciadores da protozoologia entre nós caracterisando muitas especies e entre outras este tão curioso *Cystodiscus immersus,* da vesicula biliar dos batraquios brasileiros.

Tendo voltado a Europa afim de aperfeiçoar seus estudos ao lado de Unna, realizou pesquísas sôbre a morféa.

Em 1889, foi convidado a ir a Hawaii estudar lepra demorando-se nesta honrosa comissão 2 anos. Em Honolulu não limitou suas atividades ao setôr da lepra tendo feito notáveis pesquísas sôbre dermatologia e helmintologia.

De volta ao Brasil donde saíra impressionado pela terrivel epidemia de febre amarela de Campinas, voltou a sua atenção para os insétos vetôres de molestias.

Como um dos pioneiros da chamada teoria Havaneza, repetiu, com sucesso, experiências da transmissão da molestia pelo mosquito. Nas suas pesquísas fez questão de servir entre os que se submeteram a ela, demonstrando a rigesa de sua ética cientifica.

Nomeado diretor do Instituto Bacteriologico de S. Paulo (1892), afastou-se da clinica, sobrando-lhe mais tempo para as pesquísas. A febre tifoide e a amebiose tiveram então muitos dos seus problêmas elucidádos por suas pesquísas. Os seus estudos de protozoologia e principalmente de entomologia fôram intensificados dando deste módo satisfação a seu gosto pela zoologia.

As contribuições ao conhecimento dos culicideos brasileiros tiveram influencia decisiva no desenvolvimento deste râmo da entomologia. Estudou e caracte-

risou de modo preciso muitas especies estabelecendo seus habitos e ciclos evolutivos. Observando os problêmas do paludismo na Serra do Cubatão, onde se construia a primeira vía ferrea para Santos, verificou ser esta molestia transmitida por anofelinos cujas larvas vivem nas aguas contidas nas bromeliaceas, dedução que recentemente teve a mais positiva demonstração em experiências de laboratório.

Até então o paludismo era tido como molestia exclusiva de regiões pantanosas.

A sua perfeita análise dos caractéres morfológicos permitiu fundamentar a sistematica dos culicideos em bases que realmente exprimem as relações filogeneticas dos diversos grupos.

Ocupou-se tambem com os Tabanideos, tornando-se um dos maiores conhecedores destes hematofagos. A evolução destes dipteros e sua classificação com fundamentos na filogenia tiveram em LUTZ um dos maiores esclarecedores.

As molestias dos animais, tais como o mal de cadeiras e a cara inchada, dos equideos, foram investigadas e postas em evidencia. Produziu tambem notaveis contribuições sôbre cogumelos do homem e dos animais.

Os relatórios de diretor do Instituto Bacteriologico são depositarios condensados de inumeras e variadas contribuições originais para a nosologia regional.

Em 1909 afasta-se da direção do Instituto Bacteriologico de S. Paulo para vir, a convite de OSWALDO CRUZ, trabalhar em Manguinhos. Não tendo encargos administrativos e dispondo da maravilhosa bibliotéca deste Instituto poude, então, já com mais de 50 anos de idade, aumentar a sua produtividade cientifica.

Desenvolveu seus estudos entomologicos iniciados em S. Paulo, principalmente os dos tabanideos. Os simulideos e ceratopogonideos fôram brilhante e exaustivamente estudados em todas as suas fáses evolutivas. Os flebotomos, os pupiparos e as sarcofagas fôram tambem estudados. Dos oestrideos publicou LUTZ uma das melhores e mais belas contribuições.

Em 1917 volta-se para o problema da esquistosomose posto em fóco pelos estudos de LEIPER e MIYAGAWA.

Dedicou a estes estudos varios anos de atividade tendo realisado, nos menores detalhes, o ciclo evolutivo do *Schistosomum mansoni*. Para isto teve grandes dificuldades tais como o pouco conhecimento de nossa fauna de moluscos de agua dôce. Não se intimidou o notável zoólogo, atacou o dificil problêma tendo feito notaveis pesquisas sôbre os moluscos de agua dôce encontrados no Brasil. Assim, foi levado a perlustrar com brilho mais um capítulo dificil e ainda obscuro da fauna brasileira.

O estudo das larvas aquaticas de insétos hematofagos o levou ao estudo dos Blefarocerideos, curiosos dipteros cujas larvas vivem em aguas encachoeiradas. Estes dipteros eram tidos por entomologistas mais antigos como possiveis hematofagos, o que foi demonstrado não ser possivel pela estrutúra das partes bucais.

O estudo dos insétos cujas larvas vivem em agua de grande correnteza torna-se muito arduo pela dificuldade de sua criação em laboratório. As pesquisas no *habitat* normal exigem habilidade e tenacidade invulgares, qualidades que sobraram em LUTZ.

Paralelamente ao estudo sôbre a evolução e morfologia do *Schistosomum mansoni*, outros trematodeos fôram estudados. Assim, foi esclarecido o ciclo evolutivo dos Strigeideos, resolvendo problêma que tinha desafiado a sagacidade de pesquisadores do mundo inteiro, demonstrando serem os "Tetracotyles" uma fáse evolutiva destes trematodeos.

Beirando os 70 anos, desenvolve vigorosa atividade no estudo dos batraquios, onde produz notaveis estudos. Os batraquios apresentam grandes dificuldades no estudo de sua evolução, pois frequentemente habitam logares de acesso peri-

goso e sua captura sómente é produtiva em noites chuvosas. Não obstante a sua idade física, pois de espírito não envelheceu, obstinava-se a estas perigosas caçadas afim de observar pessoalmente e no proprio *habitat* os objétos de suas preocupações.

O conhecimento de venenos crueis que muitos destes animais produzem, e que em mãos criminosas podem se tornar armas perigosas e traiçoeiras, tornou de interesse medico o bom conhecimento destes sêres que devem hoje constituir um capitulo da Zoologia Medica.

Conseguimos reunir uma lista de mais de 200 publicações de LUTZ nas quais é registrado impressionante acervo de conhecimentos dos mais variados assuntos principalmente sôbre dermatologia, parasitologia e zoologia, e até mesmo de técnica de laboratório, que foi enriquecida com engenhosos artificios de estudo.

Contribuiu para o conhecimento de nossa fauna com mais de 350 especies dos mais diversos grupos zoologicos, por êle descritas, e estabeleceu mais de 38 novos gêneros.

Analisando a produtividade de suas pesquisas através de seus trabalhos percebe-se que nos seus 62 anos de atividade cientifica seu trabalho foi uniforme tendo aumentado desde que, como diretor do Laboratório Bacteriologico de São Paulo, se poude dispensar das atividades de clinico e pela vinda ao Instituto Oswaldo Cruz, das atividades burocraticas. Seu corpo envelheceu e perdeu a rigêsa sómente depois dos 80 anos, seu espirito, porém, foi sempre jovem até a vespera de seu passamento.

Foi LUTZ no inicio de sua carreira combatido, não por animosidade pessoal, antes pela ignorancia e pela rotina. Houve mesmo quem escrevesse, a proposito da importancia que estavam tomando os estudos dos Culicideos que se estava transformando a medicina em zoologia.

Com o advento da era Oswaldiana e com a melhor compreensão da ciencia pelo meio tornou-se LUTZ sumamente admirado e estimado. O seu temperamento retraído e sua preocupação continua com seus estudos o tornavam arredio da vida social. Era porém acolhedor.

ADOLPHO LUTZ constitui um exemplo de trabalho que honra a Humanidade.

L. T.

EVANDRO CHAGAS (1905-1940)

Nascido no Rio de Janeiro a 10 de Agosto de 1905, diplomou-se EVANDRO CHAGAS pela Faculdade de Medicina desta cidade em 1926. Sua personalidade, dotada de uma inteligência brilhante, possuidora de grande facilidade oratoria e de impressionante dinamismo empreendedor, logo se impôz, salientando-se desde os bancos escolares. Aos dotes de espirito somava EVANDRO CHAGAS uma cultura aprimorada, adquirida cedo e facilitada pelo conhecimento de varias linguas, nas quais dissertava correntemente.

Para a realisação de pesquisas não poupava sacrificios, tendo percorrido grande parte de nosso territorio, principalmente o Norte e o Nordeste, além de alguns países sul-americanos, como Argentina e Paraguái. Em estudos esteve na França, na Alemanha e nos Estados Unidos.

Inicialmente seus trabalhos foram orientados para os problemas da cardiopatologia, onde durante sete anos concorreu com observações e fatos de valor. De 1933 em diante orientou suas pesquisas para as endemias existentes em nosso país, estudando a doença de Chagas, a leishmaniose visceral americana, a malaria e a schistosomose de Manson. Seus estudos e suas realisações sobre estes dois ultimos problemas sanitario-esconomicos foram infelizmente interrompidos em pleno desenvolvimento.

EXERCEU EVANDRO CHAGAS numerosos cargos, nos quais expandia suas qualidades de professor e de pesquisador. Entre eles se destacam o de Biologista do

Instituto Oswaldo Cruz, instituição para a qual ingressou em 1928, e Organisador do Instituto de Patologia Regional do Norte, onde, desde 1936, vinha orientando pesquisas sobre as grandes endemias locais. Entre suas obras construtivas destacam-se as colaborações com o Governo do Estado de Pernambuco, para a criação do Instituto da Patologia Regional do Nordeste, onde estudos sobre schistosomose mansonica foram realisados em 1938 e 1939, e com o Instituto Ezequiel Dias, de Belo Horizonte, para o estudo da doença de Chagas no Estado de Minas Gerais, cujos resultados já estão sendo obtidos.

Deixou-nos EVANDRO CHAGAS cerca de meia centena de valiosas publicações cientificas.

A 8 de Novembro p.p. faleceu tragicamente num desastre de aviação o Prof. EVANDRO CHAGAS, que, embora moço, era já um dos grandes nomes da ciencia brasileira, componente da Escola de pesquisas cientificas fundada por OSWALDO CRUZ.

T. F.

JOSÉ DA COSTA CRUZ (1894-1940)

Com a morte do Dr. JOSÉ DA COSTA CRUZ ocorrida no Rio de Janeiro em 29 de Outubro de 1940, perdeu Manguinhos um dos seus mais brilhantes elementos.

COSTA CRUZ nasceu em Belém do Pará em 12 de Fevereiro de 1894, tendo feito curso secundario em Portugal. A seguir ingressou na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, e ainda estudante começou a frequentar o Instituto Oswaldo Cruz, onde fez sua formação cientifica e exerceu sua carreira de pesquisador. Realizando com destaque o curso de especialisação do mesmo Instituto, desde cedo manifestou acentuada inclinação para a microbiologia, especialmente para os problemas immunologicos, dos quais veio a ser mais tarde o nosso maior especialista. A sua tese de doutoramento versou sobre estudos experimentais sobre o tetano, e de 1921, data o inicio da serie de suas pesquisas referentes a autolíse microbiana transmissivel, i.e., o bacteriófago de D'HERELLE.

Em 1924, obteve sucessos verdadeiramente espetaculares no tratamento das disenterias bacilares com o emprego do bacteriófago. Suas experiencias concorreram de forma decisiva para generalisação em larga escala do emprego do bacteriófago em terapeutica e lhe grangearam grande renome dentro e fora do Brasil.

Seus trabalhos sobre bacteriofagia são classicos sendo usualmente citados pelos especialistas do assunto que os colocam em acentuado destaque, a começar pelo proprio D'HERELLE.

Foi o primeiro a estudar a interferencia dos sôros imunes do fenomeno da lise bacteriana pelo bacteriófago, encontrado depois dêle por HAUDUROY. Tambem estudou a impediencia do fenomeno na ausencia dos electrolitos, aproximando o bacteriófago dos anticorpos e dos fermentos que só se mantêm soluveis em sua presença. Com isto inclinava-se à crença que o bacteriófago era um fermento, corroborada ainda numa nota sobre a influencia do pH na bacteriofagia, confirmando a verificação de SCHEIDEGGER.

Demonstrou a sensibilidade do bacteriófago à ação oligodinâmica e estabeleceu uma relação entre a concentração de bacterias e a potencia do bacteriófago, previsto na observação de DOERR & GRUNINGER, provando assim a independencia da bacteriofagia com a multiplicação bacteriana.

Ainda no terreno da bacteriofagia, COSTA CRUZ vinha nos ultimos anos pesquisando a ação dos bacteriófagos autogenos no tratamento das septicemias, já tendo apresentado varias observações de cura.

Não constituiu, porém, o bacteriófago preocupação unica de sua atenção.

No dominio da imunidade propriamente dita, suas investigações foram importantes. Verificou na serie de diluições de sôros aglutinantes uma zona em

que as relações entre aglutininas e aglutinogenos era mais favoravel, isto é, estabeleceu um *optimum* de zona nessa relação ou um *optimum* de aglutinação.

Estudou extensivamente a formação de precipitinas no organismo animal, determinando o teor de sua formação com o tempo de introdução do precipitinogeno em comparação com a formação de antitoxinas e anticorpos. Obteve então elementos demonstrativos de diferenças entre precipitinas e aglutininas, evidenciando ao mesmo tempo variarem no tempo a formação dos anticorpos — aglutininas, precipitinas e antitoxinas.

A natureza do terceiro complemento da alexina foi por êle examinado sob a ação do formol, tendo podido assemelhar o mecanismo de sua formação ao da genese da anafilotoxina de FRIEDBERG. Descobriu uma ação destrutiva do virus amarilico sobre o complemento e aplica essa alteração sanguinea ao diagnostico da febre amarela e nas alterações hepaticas.

Ultimamente, COSTA CRUZ estava empolgado pela produção de antitoxina ou toxoide difterico a ser empregado no preparo de sôros imunisantes ou na imunisação ativa do homem. Aperfeiçoando os meios de cultura, COSTA CRUZ conseguiu obter toxoides até com 90 unidades imunisantes, mais do dobro portanto, dos produtos mais valorosos até agora conseguidos. Amostras de toxoides por êle preparadas, enviadas a RAMON, tiveram deste plena confirmação dos resultados em carta recebida pouco antes de sua morte. Suas verificações neste terreno mostraram mais, que a capacidade toxigena do bacilo difterico depende mais essencialmente do meio de cultura que da amostra do germen empregado em produzir a toxina. Com amostras abandonadas por terem reduzido em toxidez, obteve com o seu metodo de cultura, toxinas potentes transformadas em toxoides ricos de unidades floculantes. Estes resultados ficaram ineditos.

Desde Novembro de 1926, era chefe de Laboratorio do Instituto Oswaldo Cruz, cargo que ocupou até sua morte.

Durante sua estadia na Europa, em 1925, teve ocasião de trabalhar durante certo tempo no laboratorio de BORDET.

Como teve ocasião de assinalar o Prof. MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA em palavras proferidas na Academia Brasileira: "COSTA CRUZ era uma das personalidades mais genuinamente caracteristicas do nosso grande Instituto. Dotado de espirito muito critico e penetrante, interessou-se por tudo e por todos e acompanhava a atividade e os trabalhos de todos os seus colegas. Vinha frequentemente ao laboratorio de cada um de nós, onde ficava horas a acompanhar os trabalhos. Houve tempo em que pernoitava no Instituto afim de não interromper suas observações. Era dotado de grande cultura e possuia em alto grao o senso do humorismo e ironia."

Morrendo aos 46 anos, em plena pujança e vigor de espirito, COSTA CRUZ deixa um claro irreparavel na ciencia brasileira, na qual podia ser considerado como o nosso maior imunologista.

M. V. D.

O **Prof. Lauro Travassos** foi eleito membro correspondente da *"Zoological Society of London"*, na reunião mensal realisada no dia 18 de Dezembro de 1940, segundo comunicação recebida do Secretario da mesma Sociedade, Prof. JULIAN HUXLEY.

O **Sr. Romualdo Ferreira de Almeida** foi contratado pelo Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura do Estado de S. Paulo, onde se acha desde Fevereiro de 1941.

O **Dr. Thales Martins** depois de prolongada estadia em S. Paulo, onde esteve ocupando a direção do Departamento de Endocrinologia do Instituto de Butantan, retornou ao Rio, onde voltará a exercer suas atividades cientificas.